UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE E SUA RELAÇÃO COM A ADUBAÇÃO NITROGENADA NAS CULTURAS DO FEIJÃO E DO TRIGO

ADRIANA QUEIROZ DE ALMEIDA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Agricultura).

Botucatu
Outubro de 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE E SUA RELAÇÃO COM A ADUBAÇÃO NITROGENADA NAS CULTURAS DO FEIJÃO E DO TRIGO

ADRIANA QUEIROZ DE ALMEIDA
M.Sc. em Ciências Agrárias

Orientador: Prof. Dr. Rogério Peres Soratto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Agricultura).

Botucatu
Outubro de 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO. SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO, UNESP - FCA - LAGEADO, BOTUCATU (SP)

A447a

Almeida, Adriana Queiroz, 1977-
Aplicação de bioestimulante e sua relação com a adubação nitrogenada nas culturas do feijão e do trigo / Adriana Queiroz de Almeida. - Botucatu : [s.n.], 2011
xvii, 207 f. : gráfs. (alguns color.), tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2011
Orientador: Rogério Peres Soratto
Inclui bibliografia

1. Feijão - Adubação. 2. Trigo - Adubação. 3. Adubação nitrogenada. 4. Bioestimulantes. 5. *Phaseolus vulgaris*. 6. *Triticum aestivum*. I. Soratto, Rogério Peres. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTE E SUA RELAÇÃO COM A ADUBAÇÃO NITROGENADA NAS CULTURAS DO FEIJÃO E DO TRIGO

ALUNA: ADRIANA QUEIROZ DE ALMEIDA

ORIENTADOR: PROF. DR. ROGÉRIO PERES SORATTO

Aprovado pela Comissão Examinadora

PROF. DR. ROGÉRIO PERES SORATTO

PROF. DR. CIRO ANTONIO ROSOLEM

PROF. DR. LEANDRO BORGES LEMOS

PROF. DR. ORIVALDO ARF

PROF. DR. JOSÉ FERNANDES DE MELO FILHO

Data da Realização: 11 de outubro de 2011.

DEDICO E OFEREÇO

Aos meus pais pela eterna dedicação, amor e exemplo de vida,

Aos meus irmãos, companheiros eternos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me concedido a vida e a vontade de lutar e conquistar meus objetivos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Peres Soratto, exemplo de pessoa e profissionalismo, por toda ajuda, paciência e dedicação. À ele eu agradeço por todo engrandecimento profissional e é ele que nos inspira a querer sempre melhorar.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro concedido por meio de bolsa de estudo e auxílio financeiro.

À Stoller do Brasil pelo auxílio financeiro para realização das análises no Rothamsted Research Institute.

Ao Departamento de Produção Vegetal (Agricultura), em especial Lana, Vera, Valéria, Dorival e Cirinho, por fornecer todo suporte para a realização desse trabalho.

Ao Rothamsted Research Institute, especialmente ao Dr. Peter Hedden, Dra. Jane Ward and Dr. Mike Beale, por ter me acolhido, ajudado e permitido a realização dos experimentos com a cultura do trigo.

Meus agradecimentos pela ajuda na condução dos experimentos a Suelen Maia, Adalton Fernandes, Beatriz Nastaro, Leticia Andriani, Jaqueline Gonsalez, Flavia Biazotto, Aline Matoso e Genivaldo Souza-Schlick.

Aos meus amigos de Botucatu Suelen Maia, Aline Matoso, Adalton Fernandes, Adelson Perez, Angelica Fernandes, Deise Paula, Patricia Turco, Almecina Balbino pela prazerosa convivência, incentivo e amizade.

Aos “meninos do campo” Celio, Fio, Cido, Matheus, Camargo e Casemiro pela ajuda e ensinamentos.

Aos professores João Domingos Rodrigues, Ciro Rosolem e Carlos Alexandre Costa Crusciol, pela amizade, “orientação” e ajuda constante; e aos professores Fernando Broetto e Ana Catarina Caetano pela ajuda nas análises bioquímicas.

A todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS..... VI
LISTA DE FIGURAS..... XVI
1 RESUMO..... 01
2 SUMMARY..... 03
3 INTRODUÇÃO..... 05
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 07
5 MATERIAL E MÉTODOS..... 19
5.1. Experimentos com a cultura do feijão..... 19
5.1.1 Experimento I (casa de vegetação)..... 19
5.1.2 Experimento II (campo)..... 26
5.1.2.1 Safra “das águas”..... 28
5.1.2.1 Safra “da seca”..... 30
5.2 Experimentos com a cultura do trigo..... 35
5.2.1 Experimento III (bioestimulante x nitrogênio x genótipo)..... 35
5.2.2 Experimento IV (análise metabolômica)..... 39
5.2.3 Experimento V (formas de aplicação do bioestimulante x genótipos)..... 42
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 45
6.1 Experimento I (casa de vegetação)..... 45
6.2 Experimento II (campo - safras “das águas” e “da seca”)..... 63
6.3 Experimento III (bioestimulante x nitrogênio x genótipo)..... 156
6.4 Experimento IV (análise metabolômica)..... 162
6.5 Experimento V (formas de aplicação do bioestimulante x genótipos)..... 177
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... ..184
8 CONCLUSÕES..... ..186
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... ..187

LISTA DE TABELAS

Tabela **Página**

1 Características químicas do solo utilizado no experimento antes da correção (inicial) e por ocasião da semeadura do feijão. 20

2 Tratamentos e respectivas doses de bioestimulante a aplicados no feijoeiro, em experimento de vaso. 21

3 Épocas de avaliações e número de vasos utilizados em cada tratamento com bioestimulante no feijoeiro, em experimento de vaso. 22

4 Características químicas e granulométricas da camada de 0 a 20 cm de profundidade, do solo utilizado no experimento “das águas”. 28

5 Características químicas e granulométricas da camada de 0 a 20 cm de profundidade, do solo utilizado no experimento “da seca”. 30

6 Tratamentos e respectivas doses de bioestimulante que foram aplicados na cultura do trigo. 36

7 Solução estoque para dose normal de nitrogênio (10 mM) utilizada para preparação da solução nutritiva. 36

8 Teores Solução estoque para dose baixa de nitrogênio (1 mM) utilizada para preparação da solução nutritiva. 37

9 Tratamentos e respectivas doses de bioestimulante que foram aplicados no trigo. 39

10 Número de nódulos por planta, número de nós por planta, comprimento do caule, diâmetro do caule, índice relativo de clorofila e área foliar nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro, cultivar Pérola, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 46

11 Conteúdo de aminoácidos totais, conteúdo de açúcares solúveis totais e atividade da nitrato redutase nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 50

12 Massa de matéria seca de folha, caule, raiz e total nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 51

Tabela **Página**

13 Comprimento, superfície e diâmetro médio radicular nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 54

14 Teores de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 55

15 Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 57

16 Teores de nutrientes (Cu, Zn, Mn, Fe e B), na parte aérea nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação.... 61

17 Quantidade acumulada de nutrientes (Cu, Zn, Mn, Fe e B), na parte aérea nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 62

18 Número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa média de 100 grãos, massa de grãos por planta e teor de proteína bruta nos grãos do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação. 63

19 Índice relativo de clorofila, área foliar, massa de matéria seca da parte aérea e atividade da nitrato redutase do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 65

20 Área foliar do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 66

21 Atividade da nitrato redutase (ANR) no feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “da seca”. 66

22 Índice relativo de clorofila, área foliar, matéria seca da parte aérea e atividade da nitrato redutase do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 67

Tabela **Página**

23 Atividade da nitrato redutase (ANR) do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 68

24 Índice relativo de clorofila, área foliar, matéria seca da parte aérea e atividade da nitrato redutase do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 70

25 Massa de matéria seca da parte aerea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “da seca”. 71

26 Atividade da nitrato redutase (ANR) do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 72

27 Teor de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 74

28 Teores de P no feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”..... 74

29 Teor de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 75

30 Teores de N e P na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 77

31 Teor de K na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 78

32 Teor de Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 79

Tabela **Página**

33 Teor de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 80

34 Teor de N e P na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 82

35 Teor de K na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 83

36 Teor de Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”..... 84

37 Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K e Ca) na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 85

38 Quantidade acumulada de Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 85

39 Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K e Ca) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 86

40 Quantidade acumulada de N na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 87

41 Quantidade acumulada de P, K e Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 88

42 Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 90

43 Quantidade acumulada de N na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 91

Tabela **Página**

44 Quantidade acumulada de P e Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 92

45 Quantidade acumulada de K na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante (Stimulate®) e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 94

46 Teor de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$, na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 95

47 Teor de S no feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 96

48 Teor de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “das secas”. 97

49 Teor de Mg, S e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 98

50 Teor de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 99

51 Teor de Mg na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 100

52 Teor de S na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 101

53 Teor de $N\text{-}NH_4^+$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 102

Tabela **Página**

54 Quantidade acumulada de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 104

55 Quantidade acumulada de Mg e S na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.. 104

56 Quantidade acumulada de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 105

57 Quantidade acumulada de Mg, $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 106

58 Quantidade acumulada de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 108

59 Quantidade acumulada de Mg na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 109

60 Quantidade acumulada de S na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 110

61 Quantidade acumulada de $N\text{-}NH_4^+$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e da “seca”. 111

62 Quantidade acumulada de $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 112

63 Teor de micronutrientes (B, Cu, Zn e Mn) na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 114

Tabela **Página**

64 Teor de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 115

65 Teor de Cu na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na “das águas”. 116

66 Teor de Zn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.. 117

67 Teor de Mn e B na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 118

68 Teor de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 120

69 Teor de Cu, Zn e Mn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 121

70 Teor de B na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 123

71 Quantidade acumulada de micronutrientes (B, Cu, Zn e Mn) na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 124

72 Quantidade acumulada de B na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 124

73 Quantidade acumulada de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 126

Tabela **Página**

74 Quantidade acumulada de Zn e Mn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 127

75 Quantidade acumulada de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 130

76 Quantidade acumulada de Cu, Zn e Mn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 132

77 Diagnose foliar (N, P e K) do feijoeiro, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 134

78 Diagnose foliar (N) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas”. 135

79 Diagnose foliar (P e K) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 136

80 Diagnose foliar (Mg) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”.. 138

81 Diagnose foliar (Cu, Zn, Mn e B) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas” e “da seca”..... 139

82 Diagnose foliar (Cu e Zn) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas”. 140

83 Diagnose foliar (B) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas” e “da seca”. 141

84 População final de plantas, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa média de 100 grãos do feijoeiro, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 142

Tabela **Página**

85 Número de grãos por vagem e massa média de 100 grãos do feijoeiro, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “da seca”. 144

86 Produtividade de grãos e teor de proteína bruta dos grãos do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 147

87 Teor de proteína bruta dos grãos do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “da seca”. 150

88 Eficiência agronômica do N em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura (45, 90 e 180 kg ha^{-1}), em experimento de campo na safra “das águas” e “da seca”. 151

89 Classificação do tamanho dos grãos (peneiras 16, 15, 14 e 13) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”. 152

90 Classificação do tamanho dos grãos (peneira 15) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “da seca”. 153

91 Classificação do tamanho dos grãos (peneiras 12, 11, 10 e Fundo) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”..... 154

92 Massa de matéria fresca e seca da parte aérea e raízes de genótipos de trigo em função de diferentes doses de N na solução nutritiva e da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação. 155

93 Massa de matéria seca da parte aérea de genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar e N na solucção nutritiva, em experimento de casa de vegetação. Média de dois genótipos. 157

Tabela **Página**

94 Massa de matéria seca de raízes de genótipos de trigo em função da concentração de N na solucção nutritiva, em experimento de casa de vegetação. Média de dois genótipos. 159

95 Comprimento, superfície, diâmetro e volume das raízes de genótipos de trigo em função de doses de N e da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação. 160

96 Teor de N e C na parte aérea e raízes de genótipos de trigo em função de doses de N e da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação. 161

97 Teor de N da parte aérea em diferentes genótipos de trigo em função de diferentes doses de N, em experimento de vaso. 162

98 Altura, número de perfilhos e número de espigas de diferentes genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação. 178

99 Número de perfilhos e número de espigas por planta de genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação. 180

100 Número, massa de 1000, área e largura dos grãos de diferentes genótipos de trigo, em função da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de vaso. 181

101 Número, massa de 1000, área e largura dos grãos em diferentes genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de vaso. 183

LISTA DE FIGURAS

Figura **Página**

1 Precipitação pluvial (▮), temperaturas máximas (▬) e mínimas (▬) registradas na área experimental durante os períodos de agosto a novembro de 2009 e de fevereiro a maio de 2010, bem como, as datas de emergência (E), florescimento (F) e colheita (C-P) do feijoeiro cultivar Pérola. 27

2 Esquema PCA (‘Principal Component Analysis’) oriunda do conjunto completo de dados do NMR. Em vermelho a dose de N correspondendo a 1mM e em preto a dose de 10 mM. Os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante. 163

3 PCA (Principal Component Analysis) oriunda do modo negativo do conjunto de dados da análise NMR. Em vermelho a dose de N correspondendo a 1mM e em preto a dose de 10 mM. Os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante. (Nota: FG= Flavonóide Glicosídeo). 166

4 PCA (Principal Component Analysis) oriunda do modo positivo do conjunto de dados da análise NMR. Em vermelho a dose de N correspondendo a 1mM e em preto a dose de 10 mM. Os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante.. 167

5 Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente)..... 169

6 Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente)..... 171

Figura **Página**

7 Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente)..... 172

8 Expansão da região dos metabólitos oriundos do espectro da ressonância magnética próton nuclear em plantas trigo sob diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. O número zero corresponde à amostra padrão. As referências 1-A, 2-B, 3-C e 4-D, correspondem às quatro repetições do tratamento de sementes (tratamento TS) 173

9 Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente). 174

10 Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente)..... 175

11 Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente)..... 176

1 RESUMO

Em regiões onde as culturas do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e trigo (*Triticum aestivum* L.) atingiram alto nível tecnológico e são obtidas elevadas produtividades, o uso excessivo de nitrogênio (N) é bastante comum. Visando melhorar o desempenho das culturas, muito produtores utilizam bioestimulantes, porém, existem inúmeras dúvidas com relação à eficiência do uso dos mesmos, qual a melhor forma e época de aplicação para as culturas do feijão e trigo, e se existe alguma interação dessa prática com a nutrição nitrogenada das mesmas. Dessa forma, a proposta do presente trabalho foi: a) avaliar o efeito de formas e épocas de aplicação de um bioestimulante na nutrição, crescimento, produtividade e qualidade dos grãos da cultura do feijão; b) avaliar a influência da aplicação do bioestimulante no metabolismo, crescimento e produtividade de grãos na cultura do trigo, e c) avaliar se existe influência da aplicação do bioestimulante na eficiência da adubação nitrogenada das culturas do feijão e do trigo. Foram realizadas duas avaliações, uma no Brasil com a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) nomeadas de experimento I e experimento II; e a outra na Inglaterra com a cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) nomeadas de experimento III, IV e V. No Brasil foram conduzidos dois experimentos: um em casa de vegetação e o outro em campo durante duas safras, em Botucatu, SP, Brasil. Em ambos experimentos aplicaram-se os seguintes tratamentos: T0 – testemunha (sem aplicação), T1 – 250 mL ha^{-1} em tratamento de semente (TS), T2 – 250 mL ha^{-1} via foliar no estádio V_4, T3 – 250 mL ha^{-1} via foliar no estádio R_5, T4 – 250 mL ha^{-1} em TS + 250 mL ha^{-1} em V_4, T5 – 250 mL ha^{-1} em TS + 250 mL ha^{-1} em R_5, T6 – 250 mL ha^{-1} em V_4 + 250 mL ha^{-1} em R_5 e T7 – 250 mL ha^{-1} em

TS + 250 mL ha^{-1} em V_4 + 250 mL ha^{-1} em R_5. O experimento de campo foi conduzido em esquema de parcelas subdivididas e quatro doses de N (0, 45, 90 e 180 kg ha^{-1}) em cobertura nas subparcelas. Em ambos os experimentos com a cultura do feijão foram avaliados características morfológicas, bioquímicas, absorção e acúmulo de nutrientes, componentes da produção, produtividade e qualidade do grãos. Na Inglaterra, na cidade de Harpenden, o experimento III, foi constituído por dois genótipos (Green – normal e Red – anão), três formas de aplicação do bioestimulante (T0 – testemunha (sem aplicação), T1 – 250 mL ha^{-1} em tratamento de semente (TS), T2 – 250 mL ha^{-1} via foliar no estádio de iniciação floral) e duas doses de N, fornecidas através de solução nutritiva e caracterizadas por dose normal (10 mM) e dose baixa (1 mM). No experimento IV, conduzido para realização da análise metabolômica, foi constituído por quatro formas de aplicação do bioestimulante (T0 – testemunha (sem aplicação), T1 – 250 mL ha^{-1} em tratamento de semente (TS), T2 – 250 mL ha^{-1} via foliar no estádio iniciação floral, T3 – 250 mL ha^{-1} em TS + 250 mL ha^{-1} na iniciação floral) e duas doses de N fornecidas através de solução nutritiva (10 mM e 1 mM). O experimento V foi constituído por dois genótipos (Green e Red) e quatro formas de aplicação do bioestimulante (T0 – testemunha (sem aplicação), T1 – 250 mL ha^{-1} em tratamento de semente (TS), T2 – 250 mL ha^{-1} via foliar no estádio iniciação floral, T3 – 250 mL ha^{-1} em TS + 250 mL ha^{-1} na iniciação floral). Com a cultura do trigo avaliou-se: a massa de matéria fresca e seca da parte aérea e raiz; o comprimento, superfície, o diâmetro, o volume do sistema radicular, além do teor de N e C no sistema radicular e na parte aérea, conteúdo de metabólitos, altura da planta, o número de perfilhos por planta, o número de espigas por planta, o número de grãos por espiga, a massa de 1000 grãos, a área e largura dos grãos por planta. Para a cultura do feijão, o uso do bioestimulante proporcionou incrementos no crescimento radicular, na nodulação, no conteúdo de aminoácidos e açúcares solúveis e na atividade da nitrato redutase, porém, não interferiu de forma expressiva no crescimento da parte aérea, na nutrição, na produtividade e na qualidade dos grãos da cultura do feijão, além disso, a aplicação do bioestimulante não influenciou a nutrição nitrogenada e a eficiência de utilização do N aplicado na cultura do feijão. Para a cultura do trigo, o bioestimulante não promoveu acrécimos no crescimento, nos teores de N e C da parte aérea, na produção de metabólitos e nos componentes da produção da cultura do trigo. Aplicação do bioestimulante não afetou o metabolismo do nitrogênio na cultura do trigo.

BIOESTIMULANT APPLICATION AND ITS RELATIONSHIP WITH NITROGEN FERTILIZATION IN COMMON BEAN AND WHEAT CROPS. Botucatu, 2011. 207p. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: ADRIANA QUEIROZ DE ALMEIDA

Adviser: ROGÉRIO PERES SORATTO

2 SUMMARY

In regions where bean and wheat crops reached a high technological level and yields, use of high nitrogen (N) doses is common. In order to improve crops performance many farmers use biostimulants, however, there are many doubts about efficiency of using of biostimulant, the best way and application time for common bean and wheat, and if there is some interaction with the practice of N fertilization. Thus, the aim in this experiment was: a) evaluate the effect of different forms and application time of a plant regulator in nutrition, growth and yield of common bean and wheat, b) evaluate if there is influence of bioestimulant application in metabolism, growth and yield of wheat crop, c) evaluate if there is application influence of bioestimulant in efficiency of N fertilization in common bean and wheat crops. Two evaluations were evaluated, one in Brazil with the bean (Phaseolus vulgaris L.) named experiment I and experiment II, and the other in England with wheat (Triticum aestivum L.) named experiment III, IV and V. In Brazil two experiments were conducted: one at greenhouse and other at field during two seasons in Botucatu, Brazil. In both experiments were applied the following treatments: T0 - control (without application), T1 - 250 ml ha^{-1} seed treatment (ST), T2 - 250 ml ha^{-1} spraying in V_4 stage, T3 - 250 mL ha^{-1} spraying application in stage R_5, T4 - 250 ml ha^{-1} in TS + 250 ml ha^{-1} in V_4, T5 - 250 ml ha^{-1} in TS + 250 ml ha^{-1} in R_5, T6 - 250 mL ha^{-1} in V_4 + 250 ml ha^{-1} in R_5 and T7 - 250 ml ha^{-1} in TS + 250 ml ha^{-1} in V_4 + 250 ml ha^{-1} in R_5. Experiment conducted at field was in split plots and four N rates (0, 45, 90 and 180 kg ha^{-1}) in coverage in the subplots. In both experiments with bean crop were evaluated morphological, physiological, absorption and accumulation of

nutrients characters, as well as yield components, yield and quality of grain. In England, at Harpenden city, experiment III consisted of two genotypes (Green - Normal and Red - dwarf), three ways of plant regulator application (T0 - control (without application), T1 - 250 ml ha^{-1} in seed treatment (ST), T2 - 250 ml ha^{-1} spraying application in floral initiation stage) and two N doses, provided through the nutrient solution and characterized by standard dose (10 mM) and low dose (1 mM). In the fourth experiment, conducted to perform the metabolomic analysis, consisted of four ways of plant regulator application (T0 - control (without application), T1 - 250 ml ha^{-1} seed treatment (ST), T2 - 250 mL ha^{-1} in spraying floral initiation stage, T3 - 250 ml ha^{-1} in TS + 250 ml ha^{-1} in floral initiation) and two N levels through nutrient solution (10 mM and 1 mM). Experiment V consisted of two genotypes (Green and Red) and four ways of plant regulator application (T0 - control (without application), T1 - 250 ml ha^{-1} seed treatment (ST), T2 - 250 mL ha^{-1} a spraying in floral initiation stage, T3 - 250 ml ha^{-1} in TS + 250 ml ha^{-1} in floral initiation). Fresh and dry matter of shoot and root; length, surface, diameter and volume of root system, as well as C and N content in root and shoot, metabolite content, plant height, number of tillers per plant, number of ears per plant, number of grains per spike, 1000 grain mass, area and width of grains per plant were evaluated with wheat crop. For bean crop, use of plant regulator increases root growth, nodulation, content of soluble sugars and amino acids and nitrate reductase activity, however, did not interfere significantly in shoot growth, nutrition, productivity and grain quality of bean, in addition, the application of plant regulator did not influence the nitrogen nutrition and agronomic efficiency of N in the bean crop. For wheat crop, the plant regulator does not promote increase in C and N contents of the shoot, metabolites production and yield components of wheat. Application of plant regulator did not affect nitrogen metabolism in wheat crop.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, *Triticum aestivum*, plant regulator, nitrogen, metabolomic analysis, nitrate reductase, yield.

3 INTRODUÇÃO

A manutenção, produção e produtividade das culturas estão ligadas ao comportamento genético e a seleção de novas cultivares com características de interesse. Contudo, apesar dos avanços obtidos pelo melhoramento genético, o longo período para a obtenção de novas cultivares, aumenta o interesse no uso de ferramentas alternativas que possam auxiliar no aumento da produtividade das culturas e a eficiência no uso dos recursos disponíveis. Nesse contexto, os reguladores vegetais são tidos como alteranativas interessantes para alterar o metabolismo das plantas e, consequantemente, a produtividade das culturas e a qualidade dos produtos.

No Brasil, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais culturas, pois é importante fonte de renda para muitos produtores, principal alimento para a maioria da população, geradora de empregos e está distribuído por todo o território nacional já que é consideravelmente adaptado às diversidades climáticas do país. O trigo (*Triticum aestivum* L.) também é uma cultura de grande importância, pois além de auxiliar na renda de muitos produtores é um alimento básico da população brasileira.

As culturas do feijão e do trigo são exigentes em nutrientes, dentre os quais o nitrogênio (N) é absorvido em quantidades mais elevadas (OLIVEIRA et al., 1996; CASTRO; KLUGE, 1999; SYLVESTER-BRADLEY et al., 2001). Embora o feijoeiro supra parte da sua demanda de N pela associação com bactérias do gênero *Rhizobium*, a quantidade fornecida por esse processo é insuficiente, necessitando ser completada por meio de adubação mineral, para que se obtenha elevada produtividade de grãos. Apesar de relatos sobre o auxílio

do gênero *Azospirillum* na absorção de N pelo trigo (DIDONET, et al., 1996; SANTA et al., 2008; SILVA et al., 2004), essa cultura ainda obtém praticamente todo o N do solo e dos fertilizantes.

O N tem grande influência não só em aspectos do crescimento e produtividade das culturas do feijão e do trigo, mas também em características relacionadas à qualidade dos grãos, tais como, tamanho, uniformidade e teor de proteína bruta. Além disso, por ser um nutriente que apresenta grande dinâmica no sistema solo-planta, é essencial, para a obtenção de altas produtividades e redução dos custos, o uso de técnicas que possibilitem a maximização da absorção e da eficiência de utilização do N pelas plantas.

Reguladores vegetais ou fitorreguladores são compostos orgânicos, naturais ou sintéticos, que em pequenas quantidades inibem ou modificam de alguma forma processos morfológicos e fisiológicos do vegetal. Essas substâncias podem ser aplicadas diretamente nas plantas (sementes, folhas, frutos,), provocando alterações nos processos vitais e estruturais, com a finalidade de incrementar a produtividade, melhorar a qualidade e facilitar a colheita. A mistura de dois ou mais reguladores vegetais ou de reguladores vegetais com outras substâncias (aminoácidos, nutrientes e vitaminas), é chamada de estimulante vegetal ou bioestimulante.

Os efeitos do uso de bioestimulantes na agricultura, ainda são bastante divergentes na cultura do feijão e quase inexistentes na cultura do trigo, o que demonstra a necessidade de novas pesquisas para melhor avaliar os efeitos desses produtos nessas culturas, quanto à eficiência do bioestimulante, qual a melhor forma e época de aplicação, se existe alguma interação dessa prática com a adubação nitrogenada, e como o metabolismo da planta é alterado pela aplicação do bioestimulante, uma vez que as respostas das plantas podem variar em função das condições ambientais e disponibilidade de nutrientes durante seu desenvolvimento.

Os objetivos do presente trabalho foram: a) avaliar o efeito de formas e épocas de aplicação do bioestimulante (Stimulate®) na nutrição, crescimento, produtividade e qualidade dos grãos da cultura do feijão; b) avaliar a influência da aplicação do bioestimulante no metabolismo, crescimento e produtividade de grãos na cultura do trigo, e c) avaliar se

existe influência da aplicação do bioestimulante na eficiência da adubação nitrogenada das culturas do feijão e do trigo.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No que se diz respeito à questão alimentar e nutricional, o feijoeiro constitui-se em importante fonte protéica e energética, compondo a base da alimentação tradicional do brasileiro e é a principal fonte de proteína vegetal, especialmente da população de menor renda. Segundo o Conab (2011) produção total prevista para a safra 2010/2011 é de 3,4 milhões de toneladas e área colhida de aproximadamente 3,6 milhões de hectares.

Apesar de também ser considerado um alimento básico da população brasileira, tradicionalmente o país é importador de trigo em grão, sendo que a produção brasileira ocupa o segundo lugar na América do Sul, ficando atrás da Argentina (HAMADA et al., 2001). A produção total prevista para a safra 2010/2011 é de 5.882 mil toneladas, 17% superior a safra 2009/2010 que foi 5.026 mil toneladas (CONAB, 2011).

As culturas do feijão e do trigo são exigentes em nutrientes, dentre os quais o N é absorvido em quantidades mais elevadas (OLIVEIRA et al., 1996; CASTRO; KLUGE, 1999; SYLVESTER-BRADLEY et al., 2001, DA ROS et al., 2003). Embora o feijoeiro supra parte da sua demanda de N pela associação com bactérias do gênero *Rhizobium*, a quantidade fornecida por esse processo é insuficiente, necessitando ser completada por meio de adubação mineral, para que se obtenha elevada produtividade de grãos (SILVA, 1998). Além disso, pelo fato de aproximadamente 50% do N total absorvido pelo feijoeiro ser exportado para os grãos, a sua deficiência é a mais freqüente (OLIVEIRA et al., 1996).

A cultura do trigo, apresenta em sua constituição cerca de 2,9% de N na planta inteira e 2% nos grãos (CANTARELLA, 2007) e, apesar de relatos sobre o auxílio do gênero *Azospirillum* na absorção de N por essa cultura (DIDONET, et al., 1996; SANTA et al., 2008; SILVA et al., 2004) (não na mesma proporção que outras plantas como as *Fabaceae*) precisam obter praticamente todo o N do solo e dos fertilizantes.

O N é absorvido pelas raízes, especialmente na forma de NO_3^-, e é translocado para as folhas, onde é reduzido e incorporado nos aminoácidos (NELSON; COX, 2000). O processo de redução custa muita energia para a célula. Grande parte desse processo ocorre nas folhas, que são as responsáveis pela absorção e armazenamento da energia luminosa, durante a fotossíntese, em carboidratos (MALAVOLTA et al., 1997). Assim, plantas de feijão e trigo com deficiência de N apresentam-se atrofiadas e as folhas revelam coloração entre verde pálido e amarela, que se inicia pelas folhas mais velhas e relaciona-se com a participação do N na estrutura da molécula de clorofila (MALAVOLTA et al., 1997). Além disso, a deficiência de N provoca mudanças na resistência difusiva do CO_2, em virtude do aumento na resistência do mesófilo e em menor proporção na resistência estomática (RYLE; HESKETH, 1969), alterando a síntese e atividade da ribulose 1,5 bisfosfato carboxilaseoxigenase (Rubisco), o que provoca redução nas taxas fotossintéticas (COSTA et al., 1988). Esse nutriente tem grande importância, principalmente nas fases de florescimento e enchimentos de grãos, pois, como há vagens e grãos crescendo quase ao mesmo tempo, a demanda por N nessa fase é alta (PORTES, 1996). Dessa forma, o feijoeiro não absorve todo o N que necessita nos primeiros 50 dias do ciclo (ROSOLEM, 1987). Westermann et al. (1981) observaram uma absorção de até 3,5 kg ha^{-1} dia^{-1} no período de enchimento de grãos de feijão.

De acordo com Oliveira et al. (1996), a maior acumulação de N na planta de feijão ocorre entre 50 e 60 dias após a emergência, tanto na planta completa como nas folhas, raízes, grãos e vagens; em cultivares que apresentam ciclo vegetativo entre 90 e 100 dias. No caso da cultura do trigo, apesar da exigência do N nos estágios iniciais ser pequena a sua aplicação é importante para promover um rápido desenvolvimento inicial e definir a produção potencial dessa cultura (DA ROS et al., 2003), e ainda, o N é um dos nutrientes que influenciam na sua produtividade e é um dos mais absorvidos durante todo o ciclo da cultura com respostas positivas da produtividade (MEGDA et al., 2009).

O N tem grande influência não só em aspectos do crescimento e produtividade das culturas do feijão e do trigo, mas também em características relacionadas à qualidade dos grãos, tais como, tamanho, uniformidade e teor de proteínas (FARINELLI, 2003). Além disso, por ser um nutriente que apresenta grande dinâmica no sistema solo-planta, o manejo adequado do N é tido como um dos mais difíceis, sendo essencial, para a obtenção de altas produtividades, o uso técnicas que possibilitem a maximização de absorção de N pelas plantas, em razão do alto custo dos fertilizantes nitrogenados e das perdas de N, que podem representar riscos ao ambiente pela contaminação de mananciais de água (SANTOS et al., 2003).

Muitos autores destacaram a importância desse nutriente nas culturas do feijão e do trigo. Barbosa et al. (2010) explicam que o N é fator determinante na produtividade do feijão e sua utilização tem sido positiva e de forma generalizada em todo país. Furlani Júnior et al. (1996) também esclareceram a importância prática do N na produtividade da cultura do feijoeiro. Silva; Silveira (2000) explicam que o feijoeiro é uma planta exigente em nutrientes, principalmente N, por se tratar de uma cultura de ciclo curto e exigí-los prontamente disponíveis no estádio de demanda para garantir a produtividade, ou que não haja limitações. Soratto et al. (2005) quando aplicaram diferentes doses de N em diferentes estádios de crescimento do feijoeiro comum, observaram incrementos na produtividade.

Teixeira Filho (2008) explica que a utilização de cultivares de trigo com alto potencial produtivo e a adubação nitrogenada são essenciais para a obtenção de altas produtividades e em seu trabalho, utilizando cultivares de trigo com diferentes fontes e doses de N, comprovou que a aplicação de N aumentou a produtividade, o N foliar e teor de clorofila independente da cultivar, fonte e época de aplicação. Megda et al. (2009) observaram que a aplicação de N nas cultivares Embrapa 21, Embrapa 22, Embrapa, 42 e IAC 370 de trigo promoveu incrementos na produtividade, em relação a testemunha, independente da fonte utilizada e época de aplicação.

Da Ros et al. (2003) verificaram que a aplicação das doses de 30 e 60 kg ha^{-1} resultaram em maiores produtividades principalmente quando aplicadas na semeadura e em cobertura, o que pode ter sido devido às menores perdas e maximização da absorção pela cultura do trigo cultivar Fundacep 29. Mundstock; Bredemeier (2002) em seu experimento

com doses de N e trigo cultivar Embrapa 16 observaram que a aplicação de N estimulou a emissão de perfilhos, reduziu a mortalidade e promoveu aumento no número de espigas o que refletiu no incremento da produtividade de grãos. Assim, como autores citados anteriormente, Coelho et al. (1998) também observaram influência do N na altura, acamamento, massa de matéria seca, índice de colheita, massa de mil grãos e produtividade dos grãos de trigo cultivar Embrapa 22 quando aplicaram 30, 60, 90 e 120 kg ha^{-1} de N.

Devido a diversidade de resultados, a pesquisa sobre a influencia do N na cultura do trigo torna-se imprescindível, principalmente porque a disponibilidade de N também é afetada pela variabilidade genética dos genótipos (CAMARGO, 1976) e, segundo Freitas et al. (1995), existe variabilidade genética entre cultivares de trigo em relação a eficiência e, ou, resposta ao N. Além disso, as plantas de trigo de porte normal não são fortes o suficiente para sustentar o peso dos grãos promovendo expressivas perdas na produtividade (HEDDEN, 2003).

Na busca de soluções para as perdas na produtividade do trigo devido ao porte da planta, pesquisas foram intensificadas no melhoramento genético dessa cultura e um dos mais importantes resultados foi a Revolução Verde e a introdução de genes responsáveis pelo trigo anão e semi-anão. Segundo Muangprom et al. (2005), o nanismo é uma característica desejável para muitas culturas agrícolas e, naquelas produtoras de grãos, pode reduzir o tombamento e incrementar o índice de colheita. Associada a essa nova tecnologia, o uso excessivo de fertilizantes e pesticidas originaram plantas mais baixas, mais vigorosas e que respondiam ao fertilizante sem tombar, permitindo elevada produtividade de grãos mesmo que se reduzisse o alongamento das células da parte aérea, pois segundo Fisher (1986), a diferença no número de grãos pode estar relacionado a menor competitividade do colmo em relação à espiga.

Assim, entre os anos de 1999 e 2000 os genes da altura reduzida *Rht* (Reduced height) foram isolados e pôde-se comprovar que os mesmos interferem na transdução do sinal que particiona a giberelina, o hormônio da elongação (PENG et al., 1999). Os alelos *Rht* do nanismo causam redução na resposta à giberelina, pois agem como um regulador negativo da sinalização à esse hormônio e a giberelina reage reprimindo sua função (HEDDEN, 2003) e por promover a insensibilidade à giberelina, esse gen tem efeito

pleitrópico no crescimento das plantas, ou seja, multiplicidade de efeitos fenotípicos, causando redução no comprimento do coleóptilo e área foliar da plântula (ELLIS et al., 2005).

Os genes *Rht* têm sido associados ao grande incremento no potencial produtivo dos cereais pois reagem bem à adubação com N sem tombar, além de se portarem melhor nas maiores doses, ao contrário das plantas de porte normal que reagem melhor nas doses mais baixas a normal (HEDDEN, 2003). Dessa forma existe a necessidade de novas informações, principalmente por se tratar de um assunto recente. O estudo desses genótipos e seus efeitos em diferentes ambientes associados às tecnologias e manejos comuns, nas lavouras do Brasil e do mundo, são de grande importância para a agricultura.

Agregando a pesquisa genética do feijão e trigo aos estudos sobre os recursos dos solos (água e nutrientes) observa-se a grande importância do sistema radicular nas plantas, pois se bem desenvolvido é indispensável para a produtividade das mesmas. Em regiões tropicais, o sistema radicular é um dreno a ser priorizado, pois água e nutrientes são, geralmente, fatores limitantes, podendo afetar a produtividade das culturas (CATO, 2006). A absorção dos nutrientes depende da distribuição, arquitetura, superfície e capacidade das raízes de aproveitar os íons presentes em baixas concentrações na solução do solo. Neste contexto, o emprego de estratégias que favoreçam o crescimento rápido e abundante do sistema radicular torna-se premente, principalmente no período inicial da vida da planta, no qual as raízes se constituem no dreno preferencial (FANCELLI; TSUMANUMA, 2007). Esse período, para o feijoeiro, pode ser observado à partir da emissão da 3ª folha trifoliolada (V_4) (FERNANDEZ et al., 1986; FANCELLI, 2001).

A eficiência de absorção de nutrientes e de água, além de outros fatores, depende da renovação do sistema radicular, suscitando a necessidade do emprego de estratégias que assegurem o estímulo contínuo da produção de raízes novas até a fase reprodutiva, quando as mesmas restringem significativamente sua taxa de crescimento e a sua capacidade de absorção de nutrientes (FANCELLI; TSUMANUMA, 2007). Outro fator importante é que, pelo fato de no Brasil as culturas do feijão e trigo ocuparem posição de destaque, não apenas pelo volume de grãos produzidos, mas também pela importância das mesmas na alimentação humana e economia nacional, tem surgido interesse no estudo de técnicas que acarretem aumento da produtividade e da qualidade dos grãos.

A taxa de absorção de água nos primeiros 10 cm do ápice radicular é bem maior do que na região suberizada, além dos 12 cm do ápice (KRAMER; BOYER, 1995). Tal fato pode ter grande importância na nutrição nitrogenada das culturas, já que de segundo Malavolta et al. (1997), 99% do N absorvido pelas plantas entram em contato com o sistema radicular mediante fluxo de massa e, de acordo com Hungria et al. (1985), 60% do N mineral total acumulado pelo feijoeiro durante o ciclo, são absorvidos entre os estádios de florescimento e meados do estádio de enchimento dos grãos.

Segundo Cato (2006), o desenvolvimento do sistema radicular envolve estratégias que são comuns na formação de órgãos de plantas e outras particularidades às raízes, sendo estas profundamente influenciadas pelos hormônios vegetais. Dentre os hormônios envolvidos no processo de crescimento de raízes encontram-se: as citocininas, as auxinas, as giberelinas, o etileno e os inibidores. O ácido indolilacético é o hormônio que exerce maior influência sobre o crescimento das raízes (CATO, 2006). Assim, espera-se que o incremento do sistema radicular das culturas possa ser assegurado com o uso conjunto de giberilina, citocinina e auxina, em concentrações adequadas no tratamento de sementes, ou seja, reguladores vegetais, também chamados de fitorreguladores.

Reguladores vegetais ou fitorreguladores são compostos orgânicos, naturais ou sintéticos, que em pequenas quantidades inibem ou modificam de alguma forma processos morfológicos e fisiológicos do vegetal (CALDAS et al., 1990; CASTRO; VIEIRA, 2001). Essas substâncias podem ser aplicadas diretamente nas plantas (sementes, folhas, frutos,), provocando alterações nos processos vitais e estruturais, com a finalidade de incrementar a produção, melhorar a qualidade e facilitar a colheita. Quando aplicadas nas sementes (tratamento de sementes) ou nas folhas (pulverização), podem interferir em processos como germinação, enraizamento, floração, frutificação e senescência (CASTRO; MELOTTO, 1989).

Com os inúmeros benefícios obtidos a partir da aplicação de reguladores vegetais sobre as plantas cultivadas combinações desses produtos têm sido estudadas, assim a mistura de dois ou mais reguladores vegetais ou de reguladores vegetais com outras substâncias (aminoácidos, nutrientes e vitaminas), é chamada de estimulante vegetal ou bioestimulante, como por exemplo, o Stimulate® (CATO, 2006).

Entre os processos regulados pelas auxinas estão: elongação celular, fototropismo, geotropismo, dominância apical, iniciação radicular, diferenciação dos tecidos vasculares, embriogênese, produção de etileno, desenvolvimento dos frutos, partenocarpia, abscisão e expressão sexual (ARTECA, 1996).

As giberelinas são mais frequentemente associadas à promoção de crescimento da haste e, a aplicação de giberelinas pode induzir grandes aumentos na altura das plantas. Estas atuam em diversos fenômenos fisiológicos, especialmente germinação de sementes, mobilização de reservas armazenadas no endosperma, crescimento da parte aérea, florescimento, desenvolvimento de flores e frutificação (HIGASHI et al., 2002).

As citocininas podem estimular ou inibir uma variedade de processos metabólicos, fisiológicos e bioquímicos em plantas superiores. Elas estão envolvidas na regulação do crescimento e diferenciação, incluindo a divisão celular, controla a dominância apical (que é contrabalançada pelos níveis de auxina e citocinina) favorecendo desenvolvimento das gemas laterais e brotações, formação de órgãos, retardamento da quebra da clorofila, desenvolvimento dos cloroplastos, senescência das folhas, abertura e fechamento dos estômatos, metabolismo dos nutrientes e como reguladores da expressão dos genes (VIEIRA; MONTEIRO, 2002).

Estudos recentes têm comprovado que a auxina age diretamente na formação de nódulos em leguminosas. Segundo Mathesius (2008), existem muitas formas pela qual a bactéria simbionte poderia alterar a raiz e o desenvolvimento do nódulo através do envolvimento da auxina: via síntese da auxina pelo microsimbionte ou através da alteração da síntese desse hormônio (quebra, sinalização ou transporte) no hospedeiro. Além da auxina, a citocinina e o ácido giberélico também podem estar relacionados com o processo de nodulação. A citocinina age juntamente com a auxina, sustentando, os dois hormônios, a divisão celular e a síntese de primórdios nodulares. Quanto ao ácido giberélico, alguns estudos têm mostrado que este pode estimular a síntese da auxina nos nódulos e que esses dois hormônios agem sinergicamente durante a formação primordial dos mesmos.

Outro papel da auxina é na abertura e fechamento dos estômatos, juntamente com a citocinina, e isso depende da concentração e do tipo desses hormônios. Nesse processo, eles agem na concentração dos níveis de óxido nítrico nas células-guarda, já que esse processo está diretamente associado à concentração desse óxido, estresse mecânico

ou osmótico, alta concentração de CO_2 ou ainda decréscimo de umidade (XIAO-PING; XI-GUI, 2006).

Além de estimular a divisão celular, a mistura de auxinas e de cinetina induz o início da diferenciação celular. Variações nas proporções de auxinas e cinetina colocadas em uma cultura de tecidos podem influenciar fortemente o tipo de diferenciação celular. Quando a proporção do AIA é superior à de cinetina, certas regiões dos tecidos em cultura formam raízes. Proporções maiores de cinetina resultam no desenvolvimento de caules. Estes fatos demonstram que a divisão e a diferenciação celular exigem a ação conjunta e harmônica de dois reguladores vegetais: auxinas e cinetina. A cinetina não existe em plantas, mas certo número de compostos presentes nas plantas, conhecidos como citocininas, apresentam atividades similares à cinetina. Segundo Castro (1973), as citocininas promovem a ligação do RNA transportador ao complexo ribossomo-mensageiro, sendo que a presença da citocinina deve ser importante na formação e função de diversos RNA transportadores, controlando assim a síntese protéica. Além disso, esse regulador perece manter em alto nível a síntese de proteínas e enzimas, retardar a degradação de proteína e clorofila, mantendo o vigor celular e processo metabólico de absorção e assimilação dos nutrientes (COLL et al., 2001).

Srivastava et al. (1994), avaliando respostas fisiológicas do feijoeiro ao nitrato, observaram que a citocinina acelera a absorção desse nutriente e também evita os danos que porventura possam ocorrer por algum excesso, além de acumularem N nos tecidos. Nesse sentido, alguns estudos têm indicado que a aplicação de fitorreguladores favorece a absorção e a assimilação de N pelas plantas, levando a maior produtividade e teor de proteína (CATE; BRETELE, 1982; CHANDA et al., 1998; RUIZ et al, 2000), apesar de Lima et al. (2006a; b) não terem verificado interação entre doses de bioestimulante e N para o algodoeiro.

Milléo (2000) avaliou a eficiência agronômica de bioestimulante aplicado via sementes e foliar na cultura da soja e verificou que o produto foi eficiente agronomicamente, proporcionando maior produção de vagens e grãos quando a dose de 500 mL ha^{-1} do produto foi aplicado em pulverização foliar no estádio V_5.

Milléo; Zagonel (2002) trataram sementes de feijão com o Stimulate® e concluíram que a aplicação do estimulante vegetal causa maior absorção de potássio e maior concentração de proteínas nos grãos. Castro et al. (2004) observaram que a aplicação foliar do

produto Stimulate® (3,0 mL L^{-1}) aumentou a massa de vagens e a massa de grãos do feijoeiro cultivar IAC-Carioca Tybatã e a concentração de 5,4 mL kg^{-1} de sementes também produziu os mesmos resultados, mas não observaram efeitos significativos para o número de vagens por planta.

Cobucci et al. (2008) demonstraram que a aplicação do Stimulate®, quando as plantas se encontravam na fase fisiológica R_5, proporcionou aumento significativo na produtividade do feijoeiro, este aumento foi em torno de 30%, quando comparado à produtividade da testemunha. Cabe ressaltar a importância da fase fisiológica da planta no momento da aplicação, visto que o Stimulate® aplicado na mesma dose, porém em V_4, não surtiu efeito positivo na produtividade. Os mesmos autores confirmaram em outros experimentos o efeito positivo do Stimulate®, quando aplicado em R_5 e R_7, sobre a produtividade do feijoeiro. Assim, concluíram que a aplicação do estimulante Stimulate® via foliar favoreceu os parâmetros vagem por planta, massa de grãos por planta e produtividade, consequentemente.

Silva et al. (2008) quando aplicaram Stimulate® na cultura do feijoeiro em plantio direto durante o período de floração e pós-floração, encontraram resultados que propiciaram aumento no número de vagens por planta, porém, que não refletiu em aumento na produtividade. Os mesmos autores encontraram níveis de produtividade superiores a 2.200 kg ha^{-1} indicando que foram alcançados níveis consideráveis de produtividade se for considerada a média nacional.

Barbosa et al. (2008), avaliando produção de sementes do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante Stimulate® associado a diferentes doses de uréia, encontraram resultados significativos para percentagem de vagens normais, altura da inserção da primeira vagem, número de sementes por vagem e massa de 100 grãos, quando utilizaram as doses 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 L ha^{-1} de Stimulate®.

Poucos são os trabalhos relacionando o uso de bioestimulante e o trigo, porém sabe-se da influência dos hormônios vegetais (auxina, citocinina e giberelina) no metabolismo dessa cultura. Segundo Castro; Kluge (1999) as auxinas têm grande importância no controle do perfilhamento dessa cultura, pois interage diretamente com o nível de

assimilados produzidos, ou seja, há uma relação direta entre o encerramento do perfilhamento durante o desenvolvimento da espiga e o aumento na produção de auxina pelas espigas jovens.

Informações sobre a produção de auxina pelas espiguetas, primórdios florais e grãos jovens e sua influência no perfilhamento, alongamento do caule e fixação/crescimento dos grãos não são totalmente esclarecidos, mas sabe-se que os níveis desse hormônio nos grãos são baixos até o final da granação (CASTRO; KLUGE, 1999). Para os mesmos autores, assim como a auxina, a giberelina também influencia no crescimento e desenvolvimento da planta de trigo. São encontrados níveis máximos nas folhas jovens e em condições de altos níveis nutricionais; cultivares anãs normalmente apresentam altos níveis desse hormônio e respondem menos às aplicações exógenas de giberelina, pois podem apresentar um bloqueio na utilização desse hormônio.

Cato (2006) quando aplicou o Stimulate® entre 3,5 e 5,0 mL kg^{-1} de sementes de trigo observou incrementos na altura, massa de matéria seca, número de perfilhos e número de espigas por planta. Além disso, a mesma autora observou que doses crescentes do bioestimulante proporcionaram aumentos lineares no crescimento radicular vertical, porém, percentagem de plântulas normais, vigor de plântulas, produção de grãos e produtividade não foram influenciados.

Mendes (2010) observou incremento de 600 kg ha^{-1} na produtividade do trigo quando utilizou o Stimulate®, além disso verificou que houve um aumento de 4,9 e 6,1% quando o bioestimulante foi aplicado nas sementes e fase vegetativa, respectivamente.

Assim, analisando-se a bibliografia referente aos efeitos de bioestimulantes sobre as plantas cultivadas, nota-se grande variabilidade dos resultados em função da dose, da forma de aplicação, da cultura, do ambiente e das práticas agrícolas utilizadas. Isso justifica a necessidade de avaliar se a forma (tratamento de sementes ou via foliar) e a época de aplicação interferem no efeito do bioestimulante nas culturas do feijão e trigo. Além disso, referindo-se às aplicações agrícolas dos fitorreguladores, deve-se considerar que algumas plantas cultivadas já atingiram no Brasil estágios de evolução que exigem elevado nível técnico para alcançarem melhores produtividades, pois estas já não se apresentam condicionadas por limitações de ordem nutricional e hídrica, além de serem

protegidas adequadamente com defensivos (CASTRO, 2006), dessa forma a busca por novas tecnologias torna-se imprescindível.

Um questionamento existente é como o bioestimulante pode alterar a produção de metabólitos pelas plantas e o metabolismo do N. Neste contexto, a análise metabolômica é uma alternativa para o melhor entendimento da atuação do bioestimulante no metabolismo das plantas.

Essa análise é caracterizada pelo estudo sistemático da distribuição espacial e/ou temporal dos compostos de baixo peso molecular em uma amostra biológica (CAMILO, 2009). A metabolômica representa a coleção de todos os metabólitos em um organismo, ou seja, é a análise quantitativa e qualitativa dos metabólitos presentes em um organismo ou em um dado tecido (WARD et al., 2007). A análise metabolômica é considerada como a ligação entre o potencial genético (genótipo) e o produto dos genes (fenótipo), analisando o metabolismo de cada organismo, elucidando suas funções e o relacionamento entre cada um deles (FIALHO et al., 2008). Dessa forma, para Villas-Bôas (2006) o metaboloma de uma célula ou tecido tem capacidade de responder rapidamente a qualquer alteração ambiental e/ou genética e é até capaz de caracterizar mutações silenciosas.

Visto que o metabolismo celular é integrado, são vários os metabólitos que participam em diversas reações bioquímicas diferentes, dessa forma os dados metabolômicos são de difícil compreensão, tal fato associado à complexidade química e à variação da concentração dificulta a análise global do metaboloma de uma célula, por isso têm sido associadas várias técnicas de preparações de amostras a diferentes técnicas analíticas com o objetivo de tornar essa análise mais acessível (WARD et al., 2010). Sendo assim, a identificação do nível de metabólitos é importante na determinação da função gênica, pois a alteração de um único metabólito resulta na alteração do nível de diversos metabólitos que estão relacionados com ele mesmo (VILLAS-BÔAS, 2006).

Diante das informações fornecidas anteriormente, a análise metabolômica é uma área de bastante interesse para a pesquisa, pois permite a identificação e quantificação dos metabólitos primários e secundários. De acordo com Taiz; Zeiger (2009) os compostos primários são essenciais ao crescimento (como os polissacarídeos, lipídios, ácidos nucléicos, amido e proteínas) assim como os compostos secundários (compostos fenólicos,

terpenos e alcalóides) sendo importantes na medida em que estes são utilizados objetivando incremento do desenvolvimento.

Até o presente momento, nenhuma análise objetivando obtenção de um quadro completo do metaboloma de um organismo quando submetido à aplicação do Stimulate®, via tratamento de sementes ou pulverização foliar, foi realizada. Em função disto, o estudo de técnicas de análise genômica torna-se necessário para esclarecer se esse produto age no metabolismo da cultura do trigo, assim como a participação do mesmo na produção compostos do metabolismo primário e secundário, tais como carboidratos, aminoácidos, (poli) fenóis e alcalóides.

Existem também inúmeras dúvidas com relação à eficiência do bioestimulante e se existe alguma interação dessa prática com a adubação nitrogenada. Não se sabe, por exemplo, se a aplicação de bioestimulante pode melhorar a eficiência de utilização do N pelas culturas, ou, se por proporcionar aumento no crescimento, pode aumentar a demanda de N para atingir maiores níveis de produtividade, se aplicação isolada ou combinada de N e bioestimulante melhoram a qualidade física e nutricional dos grãos produzidos, ou ainda como o bioestimulante pode alterar a produção de metabólitos e o metabolismo das plantas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi constituida por dois experimentos com a cultura do feijão, um desenvolvido em condição de casa de vegetação e outro em condições de campo, durante duas safras, na Fazenda Experimental Lageado da Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, Campus de Botucatu, Estado de São Paulo – Brasil; e três experimentos com a cultura do trigo, conduzidos em condição de casa de vegetação, no Plant Science Department - Rothamsted Research Institute - Reino Unido.

5.1. Experimentos com a cultura do feijão

5.1.1. Experimento I (casa de vegetação)

5.1.1.1. Condução do experimento

Em janeiro de 2009 uma porção de solo classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (Embrapa, 2006), de textura média (630, 40 e 330 g kg^{-1} de areia, silte e argila, respectivamente), foi peneirada (peneira com malha de 4,0 mm). Uma amostra foi submetida à análise química, de acordo com a metodologia proposta por Raij et al. (2001), cujos resultados estão apresentados na Tabela 1.

O solo recebeu calcário dolomítico (PRNT = 91,5%), na dose 2,68 g dm^{-3}, objetivando elevar a saturação por bases à 70% (Ambrosano et al., 1996) e foi incubado com umidade de aproximadamente 80% da capacidade de retenção de água, por um período de 50 dias.

Tabela 1. Características químicas do solo utilizado no experimento antes da correção (inicial) e por ocasião da semeadura do feijão.

Época	pH($CaCl_2$)	M.O.	P_{resina}	H+Al	Al	K	Ca	Mg	CTC	V
		($g\ kg^{-1}$)	($mg\ dm^{-3}$)	($mmol_c\ dm^{-3}$)						(%)
Inicial	4,1	18,0	3,0	72,0	14,0	0,2	2,0	1,0	75,2	4
Semeadura	5,5	19,0	80,0	28,9	1,0	3,6	45,0	17,0	95,5	69

	$S\text{-}SO_4^{2-}$	Boro	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco
	($mg\ dm^{-3}$)					
Inicial	11,0	0,13	1,0	34,0	0,8	0,1
Semeadura	176,0	0,65	1,1	60,0	5,8	3,9

Após a incubação, o solo recebeu adubação com 200 mg dm^{-3} de P (superfosfato simples) e 150 mg dm^{-3} de K (cloreto de potássio), 32 mg dm^{-3} de N (nitrato de amônio) e 58 mg dm^{-3} de FTE-BR12 (9,0% de Zn, 3,0% de Fe, 2,0 de Mn, 1,8% de B, 0,8% de Cu e 0,1% de Mo). Após isso o solo foi acomodado em vasos com capacidade de 12 dm^3. Por ocasião da semeadura do feijão, ou seja, cinco dias após a incorporação dos fertilizantes, uma amostra de solo foi coletada e submetida à análise química, de acordo com a metodologia proposta por Raij et al. (2001), cujos resultados estão apresentados na Tabela 1.

O experimento foi implantado no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por oito formas de aplicação do bioestimulante Stimulate ®, de acordo com a Tabela 2.

A classificação do Stimulate® foi feita por Castro et al. (1998), como sendo um fitoestimulante que contém fitorreguladores e traços de sais minerais, sendo de composição variável, estando presentes: 0,009% de cinetina (citocinina), 0,005% de ácido giberélico (giberelina), 0,005% de ácido indolbutírico (auxina) e 99,981% de ingredientes inertes. Esse produto químico pode, em função da sua composição, concentração e proporção das substâncias, incrementar o crescimento e desenvolvimento vegetal, estimulando a divisão celular, diferenciação e o alongamento das células, favorecer o equilíbrio hormonal da planta, podendo também aumentar a absorção e a utilização de água e dos nutrientes pelas plantas (VIEIRA; CASTRO, 2004).

No dia 13/03/2009, sementes da cultivar Pérola foram tratadas com fungicida carbendazim + thiram (45 + 105 g por 100 kg de sementes) e inseticida tiametoxam

(75 g por 100 kg de sementes). Após 30 minutos as sementes receberam os tratamentos (Tabela 2) com o bioestimulante (na dose de 3 mL kg^{-1} de sementes) e foram inoculadas com *Rhizobium tropici* (estirpe Semia 4080). A semeadura foi realizada após 30 minutos da aplicação do bioestimulante, para promover absorção do produto, utilizando-se oito sementes por vaso. A emergência ocorreu no dia 18/03/2009 e o desbaste foi realizado cinco dias após a emergência (DAE), deixando-se três plantas por vaso.

Tabela 2. Tratamentos e respectivas doses de bioestimulante aplicados na cultura do feijão, em experimento de casa de vegetação.

Tratamentos	Forma/Época de aplicação	Dose por aplicação[(1)]	Dose total
		(mL ha^{-1})	
T0	Testemunha (sem aplicação)	0	0
T1	Tratamento de semente (TS)	250	250
T2	Foliar no 3ª folha totalmente expandida (V_4)	250	250
T3	Foliar no início do surgimento de botões florais (R_5)	250	250
T4	TS + V_4	250	500
T5	TS + R_5	250	500
T6	V_4 + R_5	250	500
T7	TS + V_4 + R_5	250	750

[(1)] A dose de bioestimulante por 100 kg de sementes foi calculada de acordo com o tamanho das sementes e a quantidade necessária para a semeadura de 1 ha, utilizando-se como cálculo base o espaçamento de 0,45 m e 16 sementes por metro de sulco. As doses utilizadas são as indicadas pelo fabricante. Estádios fenológicos segundo Fernandez et al. (1986).

O N em cobertura foi fornecido mediante cinco aplicações, utilizando-se 15 mg dm^{-3} de N (sulfato de amônio), aos 8, 26 e 34 DAE e 18 mg dm^{-3} de N (uréia) aos 40 e 49 DAE. Também foi aplicado K em cobertura, mediante a aplicação de 40 mg dm^{-3} de K (cloreto de potássio), aos 40 e 49 DAE.

O fornecimento de água foi realizado periodicamente, avaliando-se a necessidade através da pesagem dos vasos, colocando-se a quantidade suficiente para elevar a 100% da capacidade de retenção de água e sempre que o nível atinja 80% desta. A máxima

capacidade de retenção foi previamente determinada e a quantidade estabelecida foi 1,5 L de água por vaso.

Foram realizadas aplicações do inseticida tiametoxam (0,25 g kg^{-1}) aos 22, 35 e 50 DAE e dos fungicidas azoxystrobin (0,3 g kg^{-1}), aos 22 e 42 DAE, e clorotalonil+tiofanato metílico (5,25 g + 2,1 g L^{-1}), aos 54 DAE, visando o controle preventivo de pragas e doenças, respectivamente.

As temperaturas médias registradas nos meses de março, abril e maio (período de execução do experimento) foram 24,3 ºC, 22,5 ºC e 20,8 ºC, respectivamente.

Aos 23 DAE as plantas atingiram o estádio V_4 (3ª folha trifoliolada totalmente expandida). O estádio R_5 (início da fase reprodutiva/pré-florescimento) foi atingido aos 30 DAE e o estádio R_6 (pleno florescimento) aos 38 DAE. As plantas de feijão atingiram a maturação fisiológica (estádio R_9) aos 78 DAE.

5.1.1.2. Avaliações realizadas em V_4, R_5 e R_6

As avaliações foram realizadas nas épocas indicadas na Tabela 3, de acordo com o tratamento. Como algumas avaliações foram destrutivas, ou seja, em cada uma foram desmontados 4 (quatro) vasos de cada tratamento, conforme indicado na Tabela 3, para os tratamentos T0 e T1 foram instalados 16 vasos cada, para os tratamentos T2 e T4 foram instalados 12 vasos cada e para os demais 8 vasos cada, totalizando no início do experimento 88 vasos.

Tabela 3. Épocas de avaliações e número de vasos utilizados em cada tratamento com bioestimulante no feijão, em experimento de casa de vegetação.

Tratamentos	Época de avaliação				Número de vasos por tratamento
	V_4	R_5	R_6	Final do ciclo	
T0	X	X	X	X	16
T1	X	X	X	X	16
T2		X	X	X	12
T3			X	X	8
T4		X	X	X	12
T5			X	X	8
T6			X	X	8
T7			X	X	8

a) Atividade da nitrato redutase

Foi coletada a última folha totalmente expandida por parcela, embrulhadas em papel manteiga e a atividade da nitrato redutase (NR) foi determinada segundo o método descrito por Jaworski (1971). Foram pesados 200 mg do tecido foliar, em triplicata, e colocados em tubos de ensaio com 5 mL de solução de incubação.

A solução de incubação foi constituída por tampão fosfato (KH_2PO_4 0,1 M; pH 7,0), KNO_3 (0,1M) e n-propanol (1% v/v). O n-propanol foi usado para aumentar a permeabilidade celular ao nitrato e nitrito. Foi acrescentado à solução de incubação o produto comercial ß-Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo reduzido (ß-NAD red) 0,5 mM (Sigma Aldrich) para promover a reativação da enzima, caso a redução da atividade ou total inativação tivesse ocorrido, segundo relatos, experimentos e comprovação de Behrend; Mateles (1975), Mann et al. (1978), Pace et al. (1990), Kosenko et al. (1993), Scheible et al. (1997), Foyer et al. (1998), Kaiser; Huber (2001), Munzarova et al. (2006), Chow et al. (2007), Konnerup; Brix (2010). A recuperação da atividade enzimática foi medida em amostras contendo somente o ß-NAD red, ou contendo somente o extrato vegetal e ß-NAD red mais extrato vegetal. Dessa forma, determinou-se a concentração adequada para a cultura do feijão e foi comprovada eficiência do produto comercial.

O tecido vegetal, submerso na solução de incubação, foi infiltrado à vácuo durante um minuto por três vezes, com a finalidade de aumentar a penetração da

solução nos tecidos. Após esse procedimento, os tubos foram cobertos com papel alumínio e mantidos, na ausência de luz, em banho-maria a 30 °C, por 30 minutos. Após a incubação foi adicionado 1 mL de sulfanilamida 1% (utilizada para interromper a reação) e 1 mL de N-naftil-etilenodiamino 0,02% para dar a coloração. Esta solução foi incubada por mais 30 minutos no escuro e a leitura de absorbância das amostras foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm. A atividade da enzima foi expressa em μmoles de NO_2^- liberados por grama de peso seco na solução de incubação no período de uma hora (μmoles de NO_2^- g h^{-1}) com base na curva padrão de $NaNO_2$ (0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10 mM).

b) Índice relativo de clorofila

Foi determinado mediante a tomada de três leituras por folíolo de todas as folhas expandidas de cada planta, utilizando o medidor de clorofila SPAD 502, posteriormente obtendo-se a média de cada parcela.

c) Número de nós por planta

Foi determinado em cada avaliação mediante a contagem do número de nós em cada planta.

d) Diâmetro do caule

Foi determinado, em cada avaliação, tomando-se, com auxílio de um paquímetro digital, a medida do diâmetro do colo de cada planta.

e) Área foliar

A determinação da área foliar foi realizada em um integrador de área foliar de bancada LICOR, modelo 3100C.

f) Massa de matéria seca da parte aérea

Após a determinação da área foliar, as folhas e as demais estruturas da parte aérea das plantas foram submetidas à secagem separadamente em estufa a 65ºC, por 72 horas, e posteriormente foi determinada a massa da matéria seca de cada estrutura (g $planta^{-1}$).

g) Avaliação do sistema radicular

As raízes foram separadas do solo por lavagem em água corrente sobre peneiras com malha de 0,5 mm, quando então foi determinado o número de nódulos. O material lavado e separado foi acondicionado em coletor universal, com solução de 30% de álcool + 70% de água e, em seguida levado à geladeira a temperatura de 4 ^{o}C, onde foi mantido até o momento das avaliações. As avaliações foram realizadas em Scanner, desenvolvido para este fim, acoplado a um computador dotado do software *WinRhyzo*, que utiliza como princípio ativo a metodologia proposta por Tennant (1975). Neste equipamento foi determinado o comprimento (m planta^{-1}), a superfície (cm^2 planta^{-1}) e o diâmetro médio radicular (mm). Após essas avaliações as amostras foram submetidas à secagem em estufa a 65 ^{o}C, por 72 horas, e posteriormente foi determinada a massa da matéria seca radicular (g planta^{-1}).

h) Teor e acúmulo de nutrientes, N-NH_4^+ e N-NO_3^- na parte aérea

O material utilizado para determinação da matéria seca da parte aérea (folhas e caules), depois de moído em moinho tipo Wiley, foi submetido à análise para determinação dos teores dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn, Zn e B), segundo os métodos descritos por Malavolta et al. (1997). Posteriormente, os teores foram multiplicados pela massa de matéria seca para o cálculo da quantidade acumulada. Os teores de N-NH_4^+ e N-NO_3^- foram determinados segundo metodologia descrita por Tedesco et al. (1985).

i) Determinação do conteúdo foliar de açúcares solúveis totais

O material utilizado para determinação da matéria seca, depois de moído em moinho tipo Wiley, foi submetido à análise do teor de açúcares solúveis totais. A extração dos açúcares solúveis da massa seca foi realizada com água. O método descrito por Dubois et al. (1956) foi utilizado para determinação do teor de açúcares solúveis totais, mediante a reação com fenol e ácido sulfúrico. As leituras de absorbância foram realizadas a 490 nm. Os resultados foram comparados com a curva padrão de glicose. O teor de açúcares solúveis totais na matéria seca foi expresso em µg de glicose.

j) Determinação do conteúdo de aminoácidos totais

O material utilizado para determinação da matéria seca, depois de moído em moinho tipo Wiley, foi submetido à análise do conteúdo de aminoácidos totais. A extração dos aminoácidos da matéria seca foi realizada com solução de etanol a 80%, na temperatura de 85 ^{o}C. Depois de resfriado foi centrifugado por 10 minutos. O sobrenadante foi separado e reextraído mais duas vezes da mesma forma acima descrita, utilizando 3 ml da solução de etanol a 80%. Após isso o volume foi completado para 10 ml com solução de etanol a 80%, retirada uma alíquota de 0,2 mL do extrato, adicionado 0,4 mL de regente ninhidrina e incubado à temperatura de 85 ^{o}C, de acordo com Kabat; Mayer (1967). Após 5 minutos os tubos foram resfriados e foi acrescentado 2 mL de etanol 50%. As leituras de absorbância foram realizadas a 570 nm. Os resultados foram comparados com a curva padrão de alanina. O teor de aminoácidos totais foi expresso em µg de aminoácido mg matéria seca^{-1}.

5.1.1.3. Avaliações realizadas no final do ciclo

As avaliações descritas a seguir foram realizadas, em todos os tratamentos, no final do ciclo da cultura.

a) Componentes de produção

a.1) Número de vagens por planta

No final do ciclo foi efetuado a retirada das plantas de cada vaso e suas vagens foram contadas, determinando-se o número de vagens por planta.

a.2) Número de grãos por vagem

O número de grãos por vagem foi obtido pela relação entre o número total de grãos e o número total de vagens por planta.

a.3) Massa de 100 grãos

O número e a massa dos grãos coletados de cada vaso foram determinados previamente, corrigindo-se a massa para 13% de umidade. Após esse passo, foi multiplicada a massa dos grãos de cada parcela por 100 e dividido pelo número de grãos de cada parcela, para determinação da massa de 100 grãos.

a.4) Massa dos grãos por planta

A massa dos grãos por planta foi determinada pela relação entre a massa total dos grãos e o número de plantas presentes em cada vaso.

b) Estimativa do teor de proteína bruta nos grãos

Os grãos colhidos foram submetidas à secagem em estufa a 65 ºC, por 72 horas, moídos em moinho tipo Wiley e armazenados, para posterior determinação do teor de N segundo Malavolta et al. (1997) e cálculo do teor de proteína bruta que foi realizado mediante a multiplicação do teor de N pelo índice 6,25 (AOAC, 1990).

5.1.2. Experimento II (campo)

As áreas experimentais utilizadas para a condução do experimento "das águas" e "da seca" são próximas e ambas fazem parte da Fazenda Experimental Lageado da Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP - Campus de Botucatu, a 22º 51'S de latitude, 48º 26'W de longitude e 740 m de altitude.

O solo foi classificado como Nitossolo Vermelho distrófico (EMBRAPA, 2006), de textura argilosa (240, 110 e 650 g kg^{-1} de areia, silte e argila, respectivamente). Segundo a classificação climática de Köeppen, o clima predominante na região é do tipo Cwa, caracterizado pelo clima tropical de altitude, com inverno seco e verão quente e chuvoso. Na Figura 1 estão contidos os dados de precipitação pluvial e temperaturas máxima e mínima registrados durante o período de condução dos experimentos.

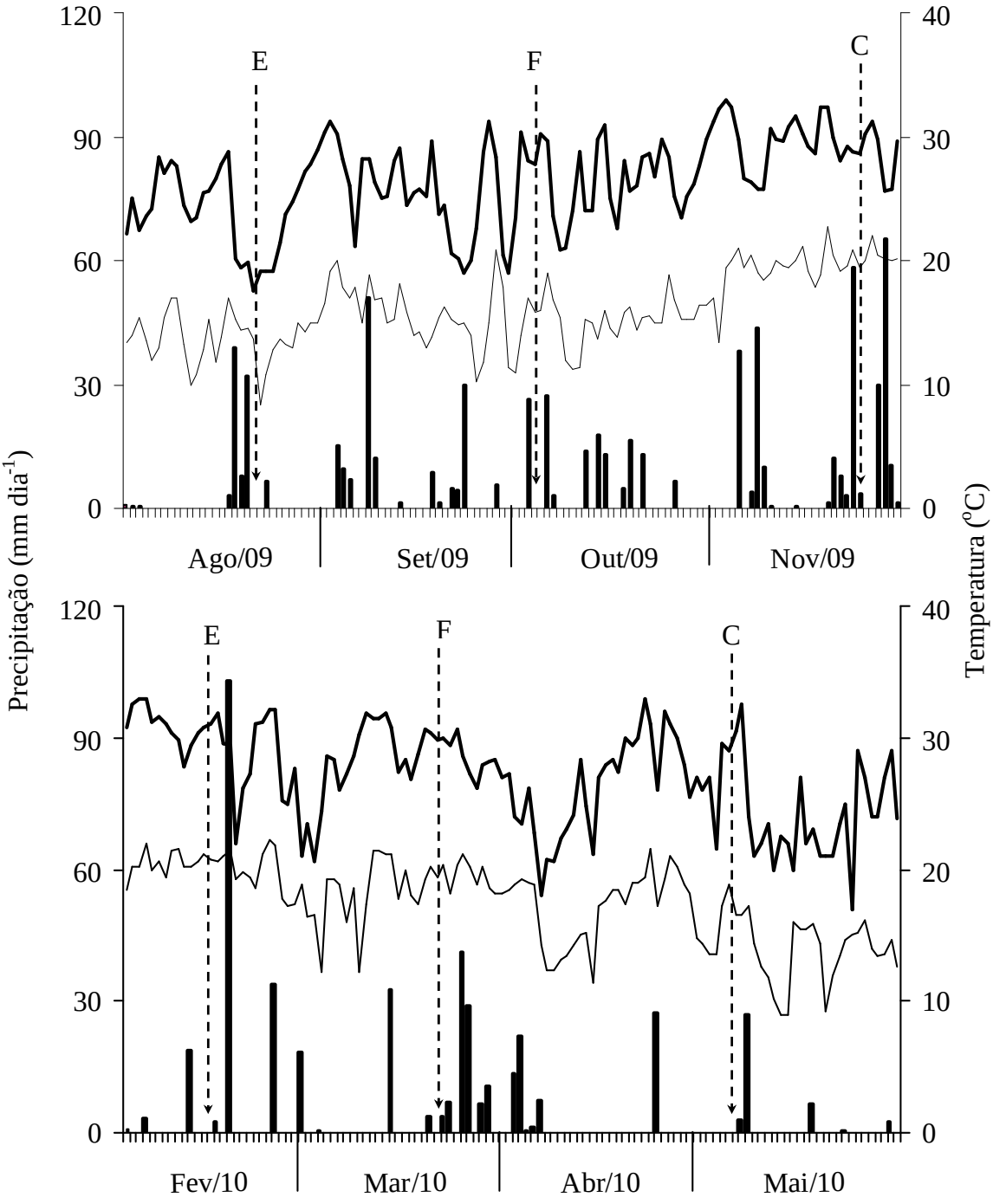

Figura 1. Precipitação pluvial ( ), temperaturas máximas ( ) e mínimas ( ) registradas na área experimental durante os períodos de agosto a novembro de 2009 e de fevereiro a maio de 2010, bem como, as datas de emergência (E), florescimento (F) e colheita (C-P) do feijoeiro cultivar Pérola.

Em ambos os experimentos, o delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema de parcela subdividida, com quatro repetições. As parcelas foram constituídas por formas de aplicação do bioestimulante (Tabela 2) e as subparcelas por quatro doses de N em cobertura (0, 45, 90 e 180 kg ha^{-1}), utilizando como fonte a uréia. Essas doses corresponderam a 0, ½, 1 e 2 vezes a quantidade recomendada por Ambrosano et al. (1996), para uma área de alta resposta e produtividade esperada de 3.500 a 4.500 kg ha^{-1} de grãos. Cada unidade experimental foi composta por cinco linhas de 6 metros de comprimento.

5.1.2.1 Safra "das águas" (inverno-primavera)

O experimento da safra "das águas" foi realizado de agosto a novembro de 2009 e foi instalado em área anteriormente cultivada com a sucessão milho/aveia/milho e com mais de 10 anos conduzido no sistema plantio direto. Antes da instalação do experimento foi realizada coleta de solo na camada de 0 a 20 cm, submetida à análise química, de acordo com a metodologia proposta por Raij et al. (2001), e granulométricas, segundo Embrapa (1997). Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Características químicas e granulométricas da camada de 0 a 20 cm de profundidade, do solo utilizado no experimento "das águas".

$pH(CaCl_2)$	M.O.	P_{resina}	H+Al	K	Ca	Mg	CTC	V
	($g\ kg^{-1}$)	($mg\ dm^{-3}$)	($mmol_c\ dm^{-3}$)					(%)
4,7	27,9	37,0	51,9	5,3	23,7	9,5	90,4	43

$S\text{-}SO_4^{2-}$	Boro	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco	Areia	Silte	Argila
($mg\ dm^{-3}$)						($g\ kg^{-1}$)		
7,2	0,42	3,2	21,8	5,1	1,1	268	107	625

Em 16/07/2009 a área experimental foi submetida à uniformização mecânica com tritutador de palha. Em 30/07/2009 as plantas presentes na área foram dessecadas mediante a aplicação de herbicida glifosate na dose de 1.440 g ha^{-1} do i.a (ingrediente ativo).

A semeadura do feijão foi realizada mecanicamente, no sistema plantio direto, em 12/08/2009, utilizando a cultivar Pérola com espaçamento de 0,45 m entre linhas e

15 sementes por metro de linha. As sementes foram tratadas com fungicida carbendazim + thiram (45 + 105 g por 100 kg de sementes), inseticida tiametoxam (75 g por 100 kg de sementes), cobalto e molibdênio (4,5 + 45 g por 100 kg de sementes de Co e Mo, respectivamente). Após 30 minutos as sementes receberam os tratamentos (Tabela 2) com o bioestimulante (na dose de 3 mL kg^{-1} de sementes) e foram inoculadas com *Rhizobium tropici* (estirpe Semia 4080), na dose recomendada para o feijoeiro. Somente os tratamentos T1, T4, T5 e T7 receberam aplicação de bioestimulante na semente (Tabela 2). A semeadura foi realizada após 30 minutos da aplicação do bioestimulante, para promover absorção do produto.

Por ocasião da semeadura, aplicaram-se, em todas as parcelas, 15 kg ha^{-1} de N, 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 36 kg ha^{-1} de K_2O, seguindo as recomendações de Ambrosano et al. (1996) e utilizando-se como fontes uréia, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente. A emergência das plantas ocorreu em 22/08/2009.

O fornecimento de água foi realizado por um sistema de irrigação convencional por aspersão (irrigação de complementação), aplicando-se uma lâmina de 7 mm em cada irrigação e sempre durante as primeiras horas da manhã, de acordo com a necessidade da cultura.

A aplicação do N em cobertura foi realizada de forma parcelada, com aplicação de metade das doses em 04/09/2009 (V_3) e metade em 15/09/2009 (V_4), utilizando-se como fonte a uréia. A distribuição do adubo foi realizada em filetes contínuos, aproximadamente 10 cm de distância das fileiras de plantas. Logo após a distribuição do fertilizante foi realizada uma irrigação com lâmina de 20 mm para incorporação do mesmo.

Nos tratamentos que receberam aplicação via foliar, esta foi feita com um pulverizador pressurizado, com pressão e volume constante, aplicando-se 200 L ha^{-1} da solução. Depois da aplicação do bioestimulante via pulverização foliar, o fornecimento de água foi realizado somente no dia seguinte, para promover absorção e evitar a lavagem do produto.

Para o controle de plantas daninhas foram realizadas aplicações dos herbicidas fluazifop-p-butil + fomesafen (120 + 150 g ha^{-1} do i.a.), nos dias 01 e 08/09/2009 e bentazon (550 g ha^{-1} do i.a.) no dia 22/09/2009. Para o controle de pragas foram realizadas aplicações dos inseticidas metamidofós (600 g ha^{-1} do i.a.), nos dias 01 e 08/09/2009 e

tiametoxam + lambda-cialotrina (14,1 + 10,6 g ha^{-1} do i.a.), no dia 25/09/2009. Para o controle de doenças foram utilizados os fungicidas propiconazol+trifloxitrobina (75 + 75 g ha^{-1} do i.a.), no dia 08/09/2009 e azoxistrobina (50 g ha^{-1} do i.a.) no dia 25/09/2009.

Aos 15/09/2009 (24 DAE) as plantas atingiram o estádio V_4 (3ª folha trifoliolada totalmente expandida). O estádio R_5 (início da fase reprodutiva/pré-florescimento) foi atingido aos 27/09/2009 (37 DAE). O estádio R_6 (florescimento) foi atingido aos 03/10/2009 (43 DAE). As plantas de feijão atingiram a maturação fisiológica (estádio R_9) 93 DAE.

5.1.2.2 Safra "da seca" (verão-outono)

O experimento da safra "da seca" foi realizado de fevereiro a maio de 2010 e foi instalado em área anteriormente cultivada com a sucessão aveia preta/milho/aveia preta/milheto e com mais de 12 anos sob sistema plantio direto. Antes da instalação do experimento foi realizada coleta de solo na camada de 0 a 20 cm, submetida à análise química, de acordo com a metodologia proposta por Raij et al. (2001), e granulométrica, segundo Embrapa (1997). Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Características químicas e granulométricas da camada de 0 a 20 cm de profundidade, do solo utilizado no experimento "da seca".

pH($CaCl_2$)	M.O.	P_{resina}	H+Al	K	Ca	Mg	CTC	V
	(g kg^{-1})	(mg dm^{-3})	———		(mmol$_c$ dm^{-3})	———		(%)
4,9	29,8	36,3	54,2	2,2	26,3	15,5	98,3	45

$S\text{-}SO_4^{2-}$	Boro	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco	Areia	Silte	Argila
———		(mg dm^{-3})	———			———	(g kg^{-1})	———
5,8	0,37	5,5	23,0	5,7	1,6	240	110	650

Em 20/01/2010 as plantas presentes na área foram dessecadas mediante a aplicação de herbicida glifosate na dose de 1.440 g ha^{-1} do i.a.

A semeadura do feijão foi realizada mecanicamente, no sistema plantio direto, em 09/02/2010, utilizando a cultivar Pérola com espaçamento de 0,45 m entre linhas e 16 sementes por metro de linha. As sementes foram tratadas com fungicida carbendazim + thiram (45 + 105 g por 100 kg de sementes), inseticida tiametoxam (75 g por 100 kg de

sementes), cobalto e molibdênio (4,5 + 45 g por 100 kg de sementes de Co e Mo, respectivamente). Após 30 minutos as sementes receberam os tratamentos (Tabela 2) com o bioestimulante (na dose de 3 mL kg^{-1} de sementes) e foram inoculadas com *Rhizobium tropici* (estirpe Semia 4080), na dose recomendada para o feijoeiro. Somente os tratamentos T1, T4, T5 e T7 receberam aplicação de bioestimulante na semente (Tabela 2). A semeadura foi realizada após 30 minutos da aplicação do bioestimulante, para promover absorção do produto.

Por ocasião da semeadura, aplicaram-se, em todas as parcelas, 15 kg ha^{-1} de N, 35 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 36 kg ha^{-1} de K_2O, utilizando-se como fontes uréia, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente. A emergência das plantas ocorreu em 15/02/2010.

O fornecimento de água foi realizado por um sistema de irrigação convencional por aspersão (irrigação de complementação), aplicando-se uma lâmina de 7 mm em cada aplicação e sempre durante as primeiras horas da manhã, de acordo com a necessidade da cultura.

A aplicação do N em cobertura foi realizada de forma parcelada, com aplicação de metade das doses em 03/03/2010 (V_3) e metade em 11/03/2010 (V_4), utilizando-se como fonte a uréia. A distribuição do adubo foi realizada em filetes contínuos, há aproximadamente 10 cm de distância das fileiras de plantas. Logo após a distribuição do fertilizante foi realizada uma irrigação com lâmina de 20 mm para incorporação do mesmo.

Nos tratamentos que receberam aplicação via foliar, esta foi feita com um pulverizador pressurizado, com pressão e volume constante, aplicando-se 200 L ha^{-1} da solução. Depois da aplicação do bioestimulante via pulverização foliar, o fornecimento de água foi realizado somente no dia seguinte, para promover absorção e evitar a lavagem do produto.

Para o controle de plantas daninhas foi realizada aplicação do herbicida fluazifop-p-butil + fomesafen (120 + 150 g ha^{-1} do i.a.) no dia 03/03/2010. Para o controle de pragas foram realizadas aplicações dos inseticidas metamidofós (600 g ha^{-1} do i.a.), nos dias 03/03/2010 e 16/04/2010, e deltametrina (25g L^{-1} do i.a.), no dia 26/03/2010. Para o controle de doenças foram utilizados os fungicidas propiconazol+trifloxitrobina (75 +

75 g ha^{-1} do i.a.), no dia 03/03/2010 e azoxistrobina (50 g ha^{-1} do i.a.) nos dias 26/03/2010 e 16/04/2010.

Aos 10/03/2010 (24 DAE) as plantas atingiram o estádio V_4 (3ª folha trifoliolada totalmente expandida). O estádio R_5 (início da fase reprodutiva/pré-florescimento) foi atingido aos 15/03/2010 (29 DAE). O estádio R_6 (florescimento) foi atingido aos 22/03/2010 (36 DAE). As plantas de feijão atingiram a maturação fisiológica (estádio R_9) aos 85 DAE.

5.1.2.3. Avaliações realizadas em V_4, R_5 e R_6

As avaliações descritas a seguir foram realizadas em V_4, R_5 e R_6, dependendo do tratamento com bioestimulante (Tabela 2) e em suas combinações com as doses de N.

a) Área foliar

Foi determinada mediante a coleta de cinco plantas por parcela. A determinação da área foliar foi realizada em um integrador de área foliar de bancada LICOR, modelo 3100C.

b) Massa de matéria seca da parte aérea

Foi determinada nas mesmas plantas coletadas para determinação da área foliar, mediante secagem em estufa a 65 ºC, por 72 horas e, posterior pesagem.

c) Teor e quantidade acumulada de nutrientes, $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea

O material utilizado para determinação da matéria seca foi submetido à análise para determinação dos teores dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Mn, Zn e B), segundo os métodos descritos por Malavolta et al. (1997). Posteriormente, os teores foram multiplicados pela massa de matéria seca para o cálculo da quantidade acumulada. Os teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ foram determinados segundo metodologia descrita por Tedesco et al. (1985).

d) Atividade da nitrato redutase

Foram coletadas três folhas recém expandidas por parcela, embrulhadas em papel manteiga e imersas em N líquido, para posterior realização das análises laboratoriais, segundo o método descrito no item 5.1.1.2.a.

5.1.2.4. Avaliações realizadas apenas em R_6

As avaliações citadas a seguir foram realizadas em todos os tratamentos.

a) Florescimento pleno

Foi determinado o número de dias compreendidos entre a semeadura e a primeira flor aberta em 50% das plantas.

b) Diagnose foliar

Foram coletadas 20 folhas com pecíolo por parcela do terço médio das plantas por ocasião do florescimento pleno (R_6) (AMBROSANO et al., 1996), submetidas à secagem em estufa a 65 ºC, por 72 horas e, em seguida, submetida à análise para determinação dos teores dos nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S, Cu, Mn, Zn e B), segundo os métodos descritos por Malavolta et al. (1997).

c) Avaliações realizadas no final do ciclo

As avaliações descritas a seguir foram realizadas em todos os tratamentos, no final do ciclo da cultura.

d) Ciclo

O número de dias compreendidos entre a semeadura e o final do ciclo da cultura.

e) Componentes da produção

e.1) População final de plantas

A determinação população final, foi realizada na véspera da colheita, considerando 2 linhas centrais com comprimento de 3 metros em cada unidade experimental, sendo os resultados convertidos em plantas ha^{-1}.

e.2) Número de vagens por planta

Determinado mediante a relação entre número total de vagens e o número total de plantas avaliados em 10 plantas dentro da área útil de cada unidade experimental.

e.3) Número de grãos por vagem

Determinado mediante a relação entre número total de grãos e o número total de vagens, avaliados em 10 plantas dentro da área útil de cada unidade experimental.

e.4) Massa de 100 grãos (g)

Foi avaliada através da pesagem de quatro amostras, de 100 grãos cada uma, em cada unidade experimental. Os dados obtidos foram transformados para 13% de umidade.

f) Produtividade de grãos

Para esta avaliação foram colhidas, manualmente, as plantas contidas na área útil de cada unidade experimental (2 linhas de 3 metros). Após esta operação, os grãos foram pesados e posteriormente foi calculada a produtividade em kg ha^{-1}, com teor de umidade 13% (base úmida).

g) Estimativa do teor de proteína bruta nos grãos

Após a determinação do teor de N dos grãos, segundo Malavolta et al. (1997), o teor de proteína bruta foi determinado mediante a multiplicação do valor de N pelo índice 6,25 (AOAC, 1990).

h) Classificação do tamanho dos grãos (peneiras)

Os grãos colhidos foram classificados em tamanho, passando-se cada repetição através de jogo de peneiras manual com crivos oblongos. Assim, sete classes de grãos foram obtidas, utilizando-se as peneiras: 12x3/4" (4,76x19,05mm); 13x3/4" (5,16x19,05mm); 14x3/4" (5,56x19,05mm); 15x3/4" (5,95x19,05mm); 16x3/4" (6,35x19,05mm); 17x3/4" (6,75x19,05mm) e 18x3/4" (7,14x19,05mm). O percentual de grãos, para cada peneira, foi calculado por meio da relação entre o peso dos grãos retidos em cada peneira e o peso da produção total dos grãos de cada repetição (BRASIL, 1992).

5.1.2.5. Eficiência agronômica do nitrogênio aplicado

Foi determinado o fator de utilização do N aplicado, mediante a relação produtividade em kg ha^{-1} / kg de N aplicado nos tratamentos.

5.1.3. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância. No experimento I (casa de vegetação), as médias referentes aos tratamentos com bioestimulante foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. No experimento II (campo), as médias referentes aos tratamentos com bioestimulante foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, enquanto os efeitos das doses de N aplicadas em cobertura foram avaliados por meio de análise de regressão polinomial (BANZATTO; KRONKA, 2006).

5.2. Experimentos com a cultura do trigo

5.2.1. Experimento III (bioestimulante x nitrogênio x genótipos)

5.2.1.1. Condução do experimento

Os tratamentos foram constituídos por três formas de aplicação do bioestimulante (Tabela 6) e duas doses de N fornecidas através de solução nutritiva e caracterizadas por dose normal (10 mM) e dose baixa (1 mM) de N (Tabelas 7 e 8).

As sementes foram colocadas manualmente para germinar em placas de Petri sobre discos de papel para germinação utilizando os genótipos Green (G1 - normal) e Red (G2 - anão) no dia 03/08/2010. Esses genótipos são estudados no departamento de Melhoramento Genético do Rothamsted Research Institute e ainda não foram lançados

comercialmente. As sementes foram tratadas com o bioestimulante na dose de 4 mL kg^{-1} de sementes e a transferência para as Placas de Petri foi realizada após 30 minutos da aplicação do bioestimulante para promover absorção do produto. As sementes dos tratamentos testemunha e T2 receberam aplicação com água destilada. As placas de Petri contendo as sementes foram acondicionadas em ambiente escuro para que ocorresse a germinação. Após três dias as sementes germinaram e foi realizado o transplante de quatro delas para cada vaso. Os vasos (com capacidade de 4 L) continham uma mistura de areia lavada + perlita na proporção de 50:50. A emergência ocorreu no dia 08/08/2010.

Tabela 6. Tratamentos e respectivas doses de bioestimulante que foram aplicados na cultura do trigo.

Tratamentos	Forma/Época de aplicação	Dose aplicada[(1)]
T0	Testemunha (sem aplicação)	0
T1	Tratamento de semente	400 mL 100 kg^{-1} de sementes
T2	Foliar na iniciação floral	250 mL ha^{-1}

[(1)]As doses utilizadas são as indicadas pelo fabricante.

Tabela 7. Solução estoque para dose normal de nitrogênio (10 mM) utilizada para preparação da solução nutritiva.

Fonte	Solução estoque	Solução Letcombe modificada para trigo	Concentração final
	(g L^{-1})	(mL da solução estoque L^{-1})	
1M $Ca(NO_3)_2$	236,15	1,5	1,5 mM
1M KNO_3	101,11	5,5	5 mM
1M $NaNO_3$	85,0	2,0	2 mM
1M $MgSO_4x7H_2O$	246,48	1,5	1 mM
1M KH_2PO_4	136,09	1,0	25 µM
50mM FeEDTA	18,4	0,5	-
Micronutrientes	[(1)]	1,0	-

[(1)] Solução estoque de micronutrientes continha (38,6 mg L^{-1} de $Cu(NO_3)_2.3H_2O$, 568,6 mg L^{-1} de H_3BO_3, 712,8 mg L^{-1} de $MnCl_2.4H_2O$, 19,7 mg L^{-1} de $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$, 372 mg L^{-1} de KCl e 202,0 mg L^{-1} de $ZnCl_2.7H_2O$).

As irrigações com solução foram iniciadas no dia 10/08/2010, mas somente 7 DAE o estresse nutritivo foi iniciado.

O experimento foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Nos tratamentos que receberam aplicação via foliar, esta foi feita na iniciação floral com um pulverizador manual contendo solução com concentração definida de 250 mL ha^{-1} do bioestimulante. Depois da aplicação do bioestimulante via pulverização foliar, o fornecimento de água, ou solução nutritiva, foi realizado somente no dia seguinte para promover absorção e evitar a lavagem do produto. O fornecimento de água, ou solução nutritiva, foi realizado a cada dois dias colocando-se a quantidade suficiente para elevar a 100% da capacidade de retenção, sempre que o nível atingisse 80% desta. A máxima capacidade de retenção foi previamente determinada e a quantidade estabelecida foi 800 mL por vaso.

Tabela 8. Solução estoque para dose baixa de nitrogênio (1 mM) utilizada para preparação da solução nutritiva.

Fonte	Solução estoque	Solução Letcombe modificada para o trigo	Concentração final
	(g L^{-1})	(mL da solução estoque L^{-1})	
1M $CaCl_2$	111,1	1,5	1,5 mM
1M KNO_3	101,9	1,0	1 mM
1M KCl	74,55	4,0	4 mM
1M NaCl	58,4	2,0	2 mM
1M $MgSO_4$	120,3	1,5	1 mM
1M KH_2PO_4	136,1	1,0	25 µM
50mM FeEDTA	18,35	0,5	-
Micronutrientes	(1)	1,0	-

(1) Solução estoque de micronutrientes continha (27,2 mg L^{-1} de $CuCl_2.2H_2O$, 568,6 mg L^{-1} de H_3BO_3, 712,8 mg L^{-1} de $MnCl_2.4H_2O$, 3,5 mg L^{-1} de $NaMoO_4.2H_2O$, 372 mg L^{-1} de KCl e 202,0 mg L^{-1} de $ZnCl_2.7H_2O$).

A temperatura regulada na casa de vegetação para o período do experimento foi de 18 ºC e 14 ºC para o dia e noite, respectivamente. O comprimento do dia foi regulado para 16 h e começava às 05:00 h da manhã. A temperatura foi monitorada a cada 20 segundos e as luzes eram desligadas automaticamente.

O estádio de iniciação floral foi atingido aos 20 DAE e aos 16/09/2010 (39 DAE) o experimento foi finalizado para a realização das avaliações.

5.2.1.2. Avaliações

a) Massa de matéria fresca e massa de matéria seca da parte aérea

A parte aérea das plantas foi coletada e pesada para determinação da massa de matéria fresca e posteriormente submetidas à secagem em estufa a 80 ºC, por 72 horas, para a determinação da massa da matéria seca (g planta^{-1}).

b) Avaliação do sistema radicular

As raízes foram separadas do substrato por lavagem em água corrente sobre peneiras com malha de 0,5 mm. O material lavado foi acondicionado em coletor universal contendo solução de 30% de álcool + 70% de água e, em seguida levadas à sala de armazenamento com temperatura constante de 4 ^{o}C, onde foi mantido até o momento das análises. Foram avaliados comprimento, superfície, diâmetro e volume do sistema radicular segundo metodologia descrita no ítem 5.1.1.2.g, diferindo somente na versão do software utilizado, neste caso *WinRhyzo Arabdopsis 2008*. Após essas avaliações as amostras foram secas em estufa a 80°C, por 72 horas, e posteriormente foi determinada a massa da matéria seca radicular (g planta^{-1}).

c) Teor de N e C totais na parte aérea e raiz

O material utilizado para determinação da massa de matéria seca da parte aérea e raiz foi moído em moinho tipo “moinho de bola” ou “Ball Mill” (Glen Creston Equipments).

A análise de N e C totais seguiu os principios do LECO Truspec Combustion Analyser (LECO Corporation), onde os instrumentos são totalmente automatizados e baseados numa versão modificada do método de digestão de Dumas (AOAC, 1984).

Foram pesados 150 mg do material moído e colocados em pequenas folhas de papel aluminio, embaladas e acondicionadas em bandejas chamadas de amostradores automáticos. Em seguida a amostra entrou na câmara de combustão onde o forno e o fluxo de gás oxigênio causou a combustão na amostra. O processo de combustão converteu qualquer elemento C, S e N para CO_2, SO_2, NO_x e N_2. Esses gases, em seguida, passaram por dois tubos anidrido para remover H_2O e por um filtro de partículas, os recolheu em um tanque base. O

gás foi deixado para equilibrar antes de ser liberado em um “loop” através das células de infravermelho onde o carbono e enxofre foram detectados. Esses gases, a partir de outro “loop”, passaram para o aquecedor onde NO_x foi catalisado e reduzido a N_2, através do Lecosorb que removeu o CO_2, e anidrido que removeu H_2O. O restante do N_2 e gás hélio (utilizado para o transporte) passaram, através de um fluxo, por uma célula de condutividade térmica onde finalmente o N foi determinado.

5.2.2. Experimento IV (análise metabolômica)

Este experimento foi realizado de setembro a novembro de 2010 e foi instalado em casa de vegetação. As sementes foram colocadas manualmente para germinar em placas de Petri sobre discos de papel para germinação utilizando o genótipo Red (anão) no dia 20/09/2010. As placas de Petri contendo as sementes foram acondicionadas em ambiente escuro para que ocorresse a germinação. Após três dias as sementes germinaram e foi realizado o transplante de vinte delas para cada bandeja. As bandejas (com capacidade de 1,5 L) continham uma mistura de areia lavada + perlita na proporção de 50:50. A emergência ocorreu no dia 26/09/2010.

Os tratamentos foram constituídos por quatro formas de aplicação do bioestimulante (Tabela 9) e duas doses de N fornecidas através de solução nutritiva e caracterizadas por dose normal (10 mM) e dose baixa (1 mM) de N (Tabelas 7 e 8). O experimento foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. As sementes receberam os tratamentos com o bioestimulante na dose de 4 mL kg^{-1} de sementes e a semeadura foi realizada após 30 minutos da aplicação do bioestimulante, para promover absorção do produto. O tratamento testemunha e o tratamento T2 receberam a mesma aplicação com água destilada.

Tabela 9. Tratamentos e respectivas doses de bioestimulante que foram aplicados no trigo.

Tratamentos	Forma/Época de aplicação	Dose por aplicação[(1)]
T0	Testemunha (sem aplicação)	0
T1	Tratamento de semente (TS)	400 mL 100 kg^{-1} de sementes
T2	Aplicação foliar (TF)	250 mL ha^{-1}
T3	TS + TF	400 mL 100 kg^{-1} de sementes + 250 mL ha^{-1}

[(1)]As doses utilizadas são as indicadas pelo fabricante.

Nos tratamentos que receberam aplicação via foliar (T2 e T3), esta foi feita com um pulverizador manual comum contendo solução com concentração definida de 250 mL ha^{-1} do bioestimulante. Depois da aplicação do bioestimulante via pulverização foliar, o fornecimento de água, ou solução nutritiva, foi realizado somente no dia seguinte, para promover absorção e evitar a lavagem do produto. Somente água destilada foi fornecida e de acordo com a necessidade da cultura.

O fornecimento de nutrientes às plantas foi realizado através de solução nutritiva (Tabelas 7 e 8). As irrigações com solução nutritiva foram iniciadas no dia 29/09/2010. A aplicação do tratamento via foliar foi realizado no estádio de quatro folhas totalmente expandidas (iniciação floral), que foi atingido 15/10/2010 e aos 04/11/2010 o experimento foi finalizado para a realização das avaliações. Foram coletadas a parte aérea das plantas, armazenadas em tubos *Falcom*, mergulhadas em N líquido e guardadas a -80°C.

Foi realizada a análise quatitativa e qualitativa do conjunto total de metabólitos de baixo peso molecular detectados por NMR – ressonância magnética nuclear (do inglês 'Nuclear Magnetic Resonance') e complementada pela ESI-MS – espectrometria de massa com ionização por electrospray (do inglês 'Electrospray Ionization – Mass Spectrometry'). Detecção de metabólitos pelo ^{1}H-NMR (ressonância magnética nuclear de hidrogênio) foi empregrada por classificar de forma rápida as amostras por análise de dados multivariados, além de ser útil na caracterização estrutural dos compostos desconhecidos. É ideal quando se utiliza extrato de plantas e somente a maioria dos metabólitos sensíveis e com núcleo magnético são observados.

No momento das análises as amostras foram liofilizadas por 48 h e moídas até uma consistência de pó. Foi pesado 15 mg de tecido foliar e colocado em microtubos (tipo *Eppendorf*) com capacidade 1,5 mL. Foi adicionado, em cada amostra, 1 mL

de solvente para a extração no NMR [D_2O-CD_3OD (80:20) contendo 0,05% de *TSP-d4* (trimetilsilil-d_4-ácido propiônico)], completamente centrifugado e incubado a 50 °C por 10 minutos. Após resfriamento, as amostras foram novamente centrifugadas por 5 minutos e 800µL do sobrenadante foi tranferido para microtubos limpos (tipo *Eppendorf*) os quais foram aquecidos a 90 °C por mais 2 minutos para ter certeza de que toda atividade enzimática foi removida.

Os microtubos foram refrigerados a 4 °C por 45 minutos e novamente centrifugados por mais 5 minutos quando então 600µL do sobrenadante foi adicionado ao tubo NMR de 5mm e 50 µL foi transferido para tudo de vidro coberto e específico para o auto-amostrador da análise ESI-MS. O ^{1}H-NMR foi adquirido sob automação a uma temperatura de 300 K em um espectrômetro da marca Avance 600 (Bruker BioSpin, Coventry, UK) operando em 600,0528 MHz usando uma sonda SEI de 5 mm. O sinal residual HOD foi suprimido pela pré-saturação e um relaxamento de 5 segundo foi empregado. Cada espectro consistiu de 128 scans, pontos de dados de 64 K e uma largura espectral de 12 ppm.

Os FIDs (identificador de fragmentos – software) foram automaticamente transformados após a aplicação de uma função exponencial com uma linha de ampliação de 0,5 Hz. Correções de fases e linhas de base foram realizadas no software do aparelho. Deslocamentos químicos em ppm no ^{1}H-NMR foram referenciados ao sinal do $(CH_3)_3$ oriundos do TSP-d_4 com valor de d0.00.

Espectro do ^{1}H-NMR foi automaticamente reduzido a um arquivo do tipo .CSV usando AMIX (versão 3.0 da Bruker Biospin, http://www.bruker-biospin.com/). Intensidade dos espectros foram escalados para o pico do TSP-d_4 **(**trimetilsilil-d_4-ácido propiônico**)** e foram reduzidos a regiões integradas ou ‘buckets’ com mesma largura (0.01 ppm) abrangendo a faixa de d9.50–0.5. Qualquer pico de próton residual em HOD e CD2HOD de d4.865–4.775 e d3.335–3.285, respectivamente, foram então excluídos de todos os conjuntos de dados, como aqueles picos do TSP-d_4 (d0.05 to –0.05).

Análises multivariadas usando PCA (‘Principal Component Analysis’) foram realizadas utilizando SIMCA-P 11.0 (Umetrics, http://www.umetrics.com) e uma escala média-centrada em toda a modelagem. Essa análise examina a presença ou ausência de agrupamentos naturais entre as amostras e visa reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original preservando a maior quantidade possível. Essa redução é obtida por PCs que

são novas variáveis ortogonais entre si e organizados em ordem decrescente de importância (PC1, PC2, etc).

Para a análise ESI-MS a 20% metanol (espectrômetro de massa pela injeção de fluxo eletrospray) uma alíquota de 50µL do extrato da amostra no solvente NMR foi diluída com uma mistura de 950 µL H_2O:CH_3OH (80:20) antes da injeção no espectrômetro de massa para ter certeza que todos os dêuterons trocáveis foram substituídos por prótons a fim de produzir espectro de massa com natural taxa de isótopos. Espectro ESI foi adquirido automaticamente usando espectrometria de massa, capturador de íon Esquire 3000 (Bruker Daltonics, http://www.bdal.de). 100 µL de cada amostra foram colocados no espectrômetro por injeção de fluxo usando Agilent 1100 Series, sistema HPLC com desgaseificador, bomba quartenária e autoamostrador. Uma série de amostras "capturadoras" também foram injetadas no espectrômetro de massa para servir como duplicata (amostras 'QA'). A taxa de fluxo foi de 100 µL min^{-1} a 20% de metanol em água.

O espectrômetro foi selecionado de 1,7 a 4,2 minutos depois da amostra ter entrado no fluxo. Espectros foram selecionados tanto no modo íon positivo quanto negativo na mesma amostra via sequência alternativa de dois modos de ionização (cada tempo seleciona 25 scans), sob um alcance *m/z* de 50-1000 usando a função ajuste inteligente ('smart tuning') (Bruker Daltonics) com objetivo de massa de *m/z* 300, uma unidade de captura, estabilidade de 100% e uma velocidade de escaneamento de 13000 *m/z* seg^{-1}. Para essa recuperação do espectro também foi utilizado o Controle de Carga do Íon ('Ion Charge Control') com um acúmulo de tempo máximo de 40 ms por 20000 ou 50000 íons modo negativo e modo positivo, respectivamente. A pressão do nebulisador foi de 20 *psi* e do gás seco 6 L min^{-1} a 350 ^oC.

Usando o software Data Analysis 3.2 (Bruker Daltonics) todos os espectros de cada amostra no modo positivo foram combinados para dar um único espectro positivo que foi exportado como arquivo ASCII files e intensidade de massa de pares. O espectro negativo foi tratado similarmente. Os arquivos ASCII de todas as amostras foram automaticamente reduzidas usando o AMIX para a obtenção de um único arquivo .CSV para cada modo de ionização contendo regiões integradas ou 'buckets' de mesma largura (*m/z*). Intensidade de espectros individuais foram escalados para uma intensidade total. Os arquivos .CSV foram importados para o Excel para cada um dos tratamentos.

Os sinais resultantes do padrão do NMR (d_4-TSP) presente em cada amostra, (+ivo íon *m/z* 195, 367, 539, 711, 883; -ivo íon *m/z* 149, 321, 493, 665, 837) e os picos de isótopos, correspondendo a +1 and +2, foram removidos da planilha de aquisição para a importação do conjunto de dados até o SIMCA-P 11.0 para a realização da análise multivariada (PCA).

5.2.3. Experimento V (formas de aplicação do bioestimulante x genótipos)

Os tratamentos foram constituídos por quatro formas de aplicação do bioestimulante (Tabela 9) e genótipos Green (G1 - normal) e Red (G2 - anão).

A sementes foram colocadas manualmente para germinar em placas de Petri sobre discos de papel para germinação no dia 14/08/2010. As sementes foram tratadas com o bioestimulante na dose de 4 mL kg^{-1} de sementes e a transferência para as Placas de Petri foi realizada após 30 minutos da aplicação do bioestimulante para promover absorção do produto. As sementes dos tratamentos testemunha e T2 receberam aplicação com água destilada. As placas de Petri contendo as sementes foram acondicionadas em ambiente escuro para que ocorresse a germinação. Após três dias as sementes germinaram e foi realizado o transplante de quatro delas para cada vaso. Os vasos (com capacidade de 4 L) continham uma mistura de areia lavada + perlita na proporção de 50:50. A emergência ocorreu no dia 19/08/2010.

O fornecimento de nutrientes foi realizado através de solução nutritiva (Tabela 7). As irrigações com solução foram iniciadas no dia 21/08/2010.

O experimento foi conduzido no delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Nos tratamentos que receberam aplicação via foliar (T2 e T3) esta foi feita na iniciação floral com um pulverizador manual contendo solução com concentração definida de 250 mL ha^{-1} do bioestimulante. Depois da aplicação do bioestimulante via pulverização foliar, o fornecimento de água, ou solução nutritiva, foi realizado somente no dia seguinte para promover absorção e evitar a lavagem do produto. O fornecimento de água, ou solução nutritiva, foi realizado a cada dois dias colocando-se a quantidade suficiente para elevar a 100% da capacidade de retenção, sempre que o nível atinjisse 80% desta. A máxima

capacidade de retenção foi previamente determinada e a quantidade estabelecida foi 800 mL por vaso.

A temperatura regulada na casa de vegetação para o período do experimento foi de 18 ºC e 14 ºC para o dia e noite, respectivamente. O comprimento do dia foi regulado para 16 h e começava às 05:00 h da manhã. A temperatura foi registrada a cada 20 segundos e as luzes eram desligadas automaticamente.

O estádio de pré-florescimento foi atingido aos 21 DAE, aos 51 DAE ocorreu o desenvolvimento completo da folha bandeira e aos 57 DAE apareceram as primeiras espigas. Em 17/01/2011 o experimento foi finalizado para a realização das avaliações.

5.2.3.2. Avaliações

As avaliações descritas a seguir foram realizadas, em todos os tratamentos, no final do ciclo da cultura.

a) Altura das plantas

Com o auxílio de régua foi medida a altura das plantas de cada vaso, em centímetros, da superfície do substrato até a ponta da espiga do colmo mais alto, excluindo as aristas.

b) Número perfilhos

Foi determinado por meio de contagem direta do número de perfilhos das plantas de cada vaso.

c) Número de espigas

Foi determinado por meio de contagem direta do número de espigas das plantas de cada vaso.

d) Número, massa de 1000, área e largura dos grãos

Essas variáveis foram determinadas através do Digital Seed Analyser Marvin 4.0 (GTA Sensorik GmbH Company) que foi escolhido por possuir uma câmera que capta a imagem e envia ao computador. O software Marvin fornece as referidas informações,

ou seja, possui a vantagem de determinar número e dimensões das sementes, calcula automaticamente a massa da amostra e o peso de 1000 grãos, pois pode estar acoplado a uma balanca eletrônica, além disso a precisão de contagem é muito elevada (erro <1%) e é bem mais rápido e silencioso que os dispositivos mecânicos de contagem.

5.2.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. A análise multivariada foi realizada na análise metabolômica

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Cultura do feijão

6.1.1. Experimento I (casa de vegetação)

O número de nódulos por planta avaliado nos estádios V_4 e R_5 não foram influenciados pela aplicação do bioestimulante (Tabela 10). Contudo, na avaliação realizada em R_6 foi observado incremento desta variável, especialmente nos tratamentos que receberam aplicação do bioestimulante nos estádios V4, R5, TS+V4 e TS+R5. A pulverização foliar no estádio V4 proporcionou a maior média e esse valor foi 129,5% superior à testemunha. Apesar do presente resultado, Klahold et al. (2006) observaram redução de 41,2% no número de nódulos na soja pulverizada com solução de 0,225 mL L^{-1} do bioestimulante.

Segundo Mathesius (2008), existem muitas formas pela qual a bactéria simbionte poderia alterar a raiz e o desenvolvimento do nódulo através do envolvimento da auxina: via síntese da auxina pelo microsimbionte ou através da alteração da síntese desse hormônio (quebra, sinalização ou transporte) no hospedeiro. Mesmo em plantas não simbiontes (em solos bacterianos) a síntese de auxina tem mostrado promover o crescimento da bactéria, como cianobactérias, o gênero *Frankia* e o próprio *Rhizobium*. O mesmo autor explica que a exsudação de vários compostos produzidos pelas plantas estimula a síntese de auxina nas bactérias, assim, estas a sintetizam através do triptofano exsudado pelas raízes da plantas. Ou ainda pela exsudação de flavonóides, em leguminosas, que estimulam a síntese do fator Nod, que também tem sido relacionado com a síntese da auxina nos *Rhizobium* sp. O autor explica que essa síntese pode promover uma favorável nodulação e que esse processo é

uma estratégia refinada do rizóbio para controlar o desenvolvimento da nodulação e também pode ser uma manipulação indireta no transporte da auxina ou seu retorno à planta hospedeira.

Tabela 10. Número de nódulos por planta, número de nós por planta, comprimento do caule, diâmetro do caule, índice relativo de clorofila e área foliar nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro, cultivar Pérola, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Nº de nódulos	Nº de nós	Comprimento do caule	Diâmetro caule	Índice relativo de clorofila	Área foliar
	— (nº planta^{-1})—		(cm)	(mm)	(SPAD)	(cm^2 planta^{-1})
			Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)			
Testemunha	30,5a	6,8a	23,1a	4,4a	36,3b	515,8b
TS	31,5a	7,3a	25,4a	4,5a	37,9a	553,8a
DMS	11,42	0,80	2,94	0,60	1,40	25,43
Teste F	0,08^{ns}	2,78^{ns}	6,24^{ns}	0,41^{ns}	12,41*	22,59*
CV (%)	16,4	5,0	5,4	6,0	1,7	2,1
			Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)			
Testemunha	117,0a	9,5a	69,6ab	3,6a	41,5a	807,0a
TS	118,5a	9,3a	65,7b	3,8a	40,9a	783,6a
V4	113,6a	9,2a	76,6a	3,8a	40,6a	802,0a
TS+V4	124,3a	9,6a	65,5b	3,7a	41,1a	844,5a
DMS	27,83	1,06	10,46	0,63	3,90	95,75
Teste F	0,51^{ns}	0,60^{ns}	4,82*	0,47^{ns}	0,18^{ns}	1,38^{ns}
CV (%)	10,7	5,1	6,8	7,7	4,3	5,4
			Estádio R_6 (florescimento pleno)			
Testemunha	93,7c	10,7a	99,4a	5,2a	38,2a	889,9ab
TS	150,4b	10,8a	93,6a	5,1a	37,2a	920,7ab
V4	215,0a	11,3a	101,6a	5,1a	38,0a	1002,4a
R5	182,0ab	11,0a	105,1a	5,4a	38,7a	988,1a
TS+V4	164,4ab	11,1a	99,9a	4,8a	37,4a	943,1ab
TS+R5	167,8ab	11,5a	103,4a	5,1a	37,3a	841,4b
V4+R5	142,4bc	10,6a	91,1a	5,2a	37,3a	951,6ab
TS+V4+R5	152,3b	11,4a	97,4a	5,5a	36,2a	934,9ab
DMS	54,83	1,46	21,61	0,71	3,77	123,94
Teste F	9,02**	1,88^{ns}	1,09^{ns}	1,74^{ns}	0,93^{ns}	3,91*
CV (%)	14,6	5,6	9,2	5,8	4,2	5,6

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

O número de nós por planta não foi afetado pelos tratamentos em nenhuma época de avaliação (Tabela 10).

Não foi observado efeito da aplicação de bioestimulante no comprimento do caule, avaliado no estádio V_4 (Tabela 10). Já na avaliação realizada em R_5, o tratamento que recebeu aplicação de bioestimulante em V4 apresentou comprimento do caule maior que os tratamentos que receberam a aplicação em tratamento de sementes ou em tratamento de sementes + pulverização em V4. Esse comportamento pode ser sido devido à giberelina presente na composição do bioestimulante, que, dentre os vários reguladores vegetais, têm apresentado resultados favoráveis no aumento do crescimento em várias espécies vegetais e tem sido utilizada para modificar o crescimento e desenvolvimento de plantas e hoje se sabe que o ácido giberélico pode funcionar como regulador da divisão e alongamento das células (TAKAHASHI et al., 1988). Arcaro et al. (2008) aplicaram ácido giberélico em pré e pós semeadura com o objetivo de avaliar a ação desse regulador na arquitetura da planta do feijão e promover aumento do comprimento dos primeiros internódios para evitar perdas de vagens. Eles encontraram resultados promissores para o comprimento do epicótilo, porém, ocorreu diminuição do comprimento de raiz e concluíram que pode ter sido devido à translocação de assimilados para crescimento do caule.

Na avaliação realizada em R_6 não foi observado efeito dos tratamentos no comprimento do caule (Tabela 10). Bertolin et al. (2010) observaram que a aplicação do mesmo bioestimulante no estádio reprodutivo promoveu aumento do comprimento do caule, porém esse incremento não esteve diretamente relacionado à maior produtividade na cultura da soja.

O bioestimulante não influenciou o diâmetro do caule (Tabela 10).

Na avaliação realizada no estádio V_4, foi verificado incremento no índice relativo de clorofila no tratamento que recebeu aplicação do bioestimulante nas sementes e esse foi 4,29% superior à testemunha (Tabela 10). Segundo Coll et al. (2001) a citocinina, presente na composição do produto, parece manter em alto nível a síntese de proteínas e enzimas, mantendo o vigor celular e processo metabólico de absorção e assimilação dos nutrientes, além disso, ela retarda a degradação de proteína e clorofila. Contudo, em R_5 e R_6 não foram verificadas diferenças entre os tratamentos.

Foram encontrados resultados significativos para área foliar nas avaliações realizadas nos estádios V_4 e R_6 (Tabela 10). As plantas que receberam aplicação de bioestimulante nas sementes apresentaram área foliar média de 553,8 cm^2 por planta, esse resultado corresponde a um incremento de 7,36% em relação à testemunha (Tabela 10). Na avaliação realizada em R_6, os tratamentos que receberam uma única aplicação de bioestimulante, seja em V4 ou em R5, apresentaram maiores médias em relação ao tratamento que recebeu aplicação via tratamento de sementes e pulverização foliar em R5 (TS+R5), porém, sem diferir dos demais tratamentos, incluindo a testemunha. Campos et al. (2008) observaram aumento da área foliar quando aplicaram o bioestimulante em plantas de soja aos 43, 74 e 105 dias após a semeadura. Já Klahold et al. (2006) observaram redução de 19,7% nesta variável quando aplicaram o bioestimulante nas sementes de soja e via foliar no estádio R2.

O ácido indolbutírico (auxina), presente na composição do bioestimulante, é responsável pelo alongamento da parede celular (essa é a resposta inicial dos tecidos vegetais às auxinas) e a cinetina (citocinina) participa ativamente dos processos de divisão e diferenciação celular (TAIZ; ZEIGER, 2009), dessa forma, além de estimular a divisão celular, a mistura de auxinas e de citocininas induz o início da diferenciação celular. O bioestimulante pode agir no crescimento e desenvolvimento foliar (VIEIRA; CASTRO, 2004).

Para as variáveis bioquímicas, resultados significativos foram encontrados somente nos estádios R_5 e R_6 (Tabela 11). Existe uma relação entre essas variáveis, e entre elas e o meio ambiente. O conteúdo de açúcares solúveis totais depende da qualidade metabólica, da carga genética da espécie, e por último, e muito importante, da influência dos fatores ambientais. Dentro da mesma espécie numa parcela, e até na mesma planta, podem ser encontrados diferentes conteúdos de açúcar total, assim como em diferentes períodos do ano, como se observa nos dados dos estádios V_4, R_5 e R_6 (Tabela 11).

Conteúdos de açúcar total variam com o suprimento de carboidratos, alterações no metabolismo, ou ainda por diluição causada por aumento de diferentes partes da planta (Tabelas 11 e 12). Segundo Quilot et al. (2004) um incremento na irrigação, por exemplo, geralmente promove o decréscimo do conteúdo de açúcar total pela diluição. Muitas vezes, o gradiente microclimático, a relação área foliar/planta ou ainda área foliar/vagem são mencionados por causar variações no conteúdo dessa variável, e ainda transformações

metabólicas relacionadas às reações enzimáticas. Uma diminuição no conteúdo de açúcar total pode também ser devido à sua utilização para fornecimento de energia no processo de redução do N e para os esqueletos de carbono, que são responsáveis, por exemplo, pela síntese de aminoácidos. Esses por sua vez, em muitos casos, podem afetar o crescimento, desenvolvimento e assimilação do nitrato, por comprometer a atividade da enzima nitrato redutase (BEHREND; MATELES, 1975). Segundo esses mesmos autores, essa enzima é inibida pelos aminoácidos e a extensão dessa inibição é paralela à inibição do crescimento, e depende da fonte de N fornecida à cultura.

Em diferentes culturas o crescimento pode ser inibido mais significativamente quando a fonte de N é o amônio, ao contrário da uréia, e vice-versa, por reagir e resultar em diferentes compostos. Essa inibição, segundo Behrend; Mateles (1975) é específica para um ou mais passos da assimilação do nitrato levando à falta de N às células, ou seja, os aminoácidos podem inibir o crescimento por um primeiro caminho e a assimilação do nitrato por um segundo; ou ainda os dois, crescimento e assimilação do nitrato, serem afetados, como efeito secundário, por um terceiro caminho metabólico. Apesar de esse efeito ser comum com o amônio, Gamborg; Shyluk (1970) também o observaram quando utilizaram como fonte de N o nitrato. Normalmente, essa inibição também é observada quando há excesso de aminoácidos na planta que pode ser devido ao excesso de adubação nitrogenada, dessa forma todo metabolismo é afetado.

Em relação ao presente trabalho, pode-se comprovar a intrínseca relação entre as variáveis analisadas (Tabela 11). Quando se obteve valores maiores no conteúdo de aminoácidos totais, observou-se redução naqueles encontrados para o conteúdo de açúcares solúveis totais e para a atividade da nitrato redutase. No estádio R_6 observou-se diminuição no conteúdo de açúcares solúveis totais e incremento no conteúdo de aminoácidos totais. No estádio R_6 os tratamentos TS, V4+R5 e TS+V4+R5 foram 39,2%, 64,3% e 46,6% superiores ao controle, respectivamente. Dessa forma, seria esperado que o incremento do conteúdo de aminoácidos (como encontrado nesse trabalho) reduziria o conteúdo de açúcares totais. Para o conteúdo de aminoácidos totais, o tratamento R5 promoveu a maior média que foi 61% superior ao controle. Resultados significativos para a atividade da nitrato redutase foram encontrados somente no estádio R_6. Nesse trabalho, os tratamentos que proporcionaram maior área foliar apresentaram a menor atividade da enzima (Tabelas 10 e 11), resultados que

contestam Marschner (1995), que explica que a atividade máxima da nitrato redutase ocorre quando a expansão foliar é máxima.

Tabela 11. Conteúdo de aminoácidos totais, conteúdo de açúcares solúveis totais e atividade da nitrato redutase nos estádios V_4, R_5 e R_6 no feijoeiro em função aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Conteúdo de aminoácidos totais	Conteúdo de açúcares solúveis totais	Atividade da nitrato redutase
	($\mu g\ mg^{-1}$ de MS)	($\mu g\ mg^{-1}$ de MS)	($\mu M\ g\ h^{-1}$)
	Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)		
Testemunha	12,9a	54,4a	92,1a
TS	13,2a	56,2a	104,1a
DMS	11,39	32,48	42,19
Teste F	$0,003^{ns}$	$0,03^{ns}$	$0,81^{ns}$
CV (%)	38,7	26,1	19,1
	Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)		
Testemunha	15,9a	131,0a	116,4a
TS	16,1a	80,2c	91,5a
V4	12,7a	113,2ab	80,4a
TS+V4	17,5a	106,0ab	104,4a
DMS	7,06	21,3	44,14
Teste F	$1,62^{ns}$	19,0*	$12,44^{ns}$
CV (%)	20,6	9,0	20,0
	Estádio R_6 (florescimento pleno)		
Testemunha	21,5ab	83,6e	46,6ab
TS	15,8b	122,6ab	40,9ab
V4	26,0ab	86,1de	35,4bc
R5	34,7a	100,5bcde	31,1c
TS+V4	13,5b	108,9bcd	69,0a
TS+R5	20,8ab	96,6cde	53,6ab
V4+R5	13,9b	137,4a	46,7ab
TS+V4+R5	16,9b	116,4abc	66,9ab
DMS	16,2	22,9	32,8
Teste F	4,42*	14,6**	3,9*
CV (%)	33,5	9,1	28,3

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de

semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Tabela 12. Massa de matéria seca de folha, caule, raiz e total nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Matéria seca de folha	Matéria seca de caule	Matéria seca de raiz	Matéria seca total
	(g planta^{-1})			
	Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)			
Testemunha	2,0a	0,5a	1,0a	3,4a
TS	2,1a	0,5a	1,0a	3,6a
DMS	0,20	0,16	0,13	0,23
Teste F	4,90^{ns}	0,41^{ns}	0,70^{ns}	7,87^{ns}
CV (%)	4,3	13,9	6,0	2,9
	Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)			
Testemunha	4,3a	1,2a	1,6a	7,0a
TS	3,7a	1,1a	1,4a	6,5a
V4	3,7a	1,1a	1,6a	6,3a
TS+V4	4,0a	1,3a	1,6a	6,8a
DMS	0,73	0,32	0,46	1,12
Teste F	2,62^{ns}	0,92^{ns}	0,10^{ns}	1,53^{ns}
CV (%)	8,5	12,5	13,1	7,6
	Estádio R_6 (florescimento pleno)			
Testemunha	4,9a	2,3a	1,6a	8,7a
TS	5,1a	2,4a	1,8a	9,3a
V4	5,5a	2,6a	1,7a	9,8a
R5	5,2a	2,6a	1,7a	9,5a
TS+V4	4,8a	2,3a	1,4a	8,4a
TS+R5	4,7a	2,5a	1,6a	8,8a
V4+R5	4,7a	2,4a	1,5a	8,6a
TS+V4+R5	5,1a	2,8a	1,7a	9,1a
DMS	1,43	0,71	0,40	2,16
Teste F	0,88^{ns}	0,72^{ns}	2,23^{ns}	1,10^{ns}
CV (%)	12,0	12,3	10,3	10,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Esses resultados positivos podem ser devido à composição, concentração e proporção das substâncias presentes no bioestimulante. Reações como a glicólise, ciclo do ácido cítrico e a via pentose-fosfato (das quais originam os aminoácidos) podem ter sido beneficiadas e ter influenciado positivamente no metabolismo do feijoeiro. Observa-se que a associação das aplicações do produto (TS + V4 ou +R5) proporcionaram melhores desempenhos em relação às variáveis em questão, contradizendo relatos de Alleoni et al. (2000) e Araújo; Ferreira (1996), que relataram que os efeitos dos produtos ocorreriam somente até estádio vegetativo.

Apesar de ter influenciado a área foliar, a aplicação do bioestimulante não influenciou a massa de matéria seca das folhas, caules, raízes e total, em nenhum dos estádios avaliados (Tabela 12). Cato (2006) verificaram efeito da aplicação de doses de bioestimulante (Stimulate®), via tratamento de sementes, no acúmulo de matéria seca por plantas de amendoim e trigo; a mesma autora também cita o efeito negativo da aplicação do produto na produção de matéria seca de plantas de sorgo. Vieira; Castro (2003) também não verificaram efeito da aplicação do mesmo bioestimulante utilizado no presente experimento, via tratamento de semente ou foliar, no acúmulo de matéria seca da parte aérea do feijoeiro.

Com relação às características do sistema radicular, verifica-se que o comprimento radicular não demonstrou ser influenciado pela aplicação do bioestimulante nas avaliações realizadas em V_4 e R_5 (Tabela 13). Contudo, em R_6 observou-se maior comprimento radicular do feijoeiro nos tratamentos que receberam aplicação do produto em R5, ou em TS+R5, no entanto sem diferirem do tratamento que recebeu aplicação em TS+V4.

Para Kudoyarova et al. (1997) quanto maior a concentração de auxina maior a taxa de crescimento do sistema radicular, comprovando, através desses resultados, a correlação entre os dois. Segundo Castro (1973) o ácido indolbutírico, presente no produto, tem a capacidade de promover a formação de primórdios radiculares, por esse motivo tem sido utilizado para provocar e acelerar o enraizamento de estacas na propagação vegetativa de numerosas espécies vegetais, ou seja, segundo Coll et al. (2001) esse regulador é utilizado para favorecer a rizogênese. Vieira; Castro (2003) e Cato (2006) não observaram efeitos consistes da aplicação do bioestimulante, via tratamento de sementes, no comprimento radicular de plantas de feijão e de trigo, respectivamente. Silva et al. (2009) também não observaram efeitos no crescimento radicular quando aplicaram a dose de 5 mL kg^{-1} de semente

de feijão e, apesar de resultados não signficativos, eles relataram um efeito inibitório nesta variável.

Semelhante ao observado para o comprimento radicular, a superfície radicular apresentou maiores valores nos tratamentos aplicação do produto em R5, ou em TS+R5, no entanto este último não diferindo estatisticamente do tratamento que recebeu aplicação em TS+V4, na avaliação realizada em R_6 (Tabela 13).

O tratamento de sementes com o bioestimulante proporcionou diâmetro radicular das plantas de feijão 4,25% superior ao da testemunha, na avaliação realizada no estádio V_4 (Tabela 13). Na avaliação realizada no estádio R_5 não foi constatado efeito dos tratamentos; no entanto, em R_6 o tratamento que recebeu aplicação do bioestimulante via foliar em R5 apresentou maior diâmetro radicular, sem diferir do tratamento com aplicação em TS+R5. Durante o ciclo de desenvolvimento das culturas, esses compostos, dependendo de sua composição, concentração e proporção das substâncias, estimulam o crescimento vegetal através de uma maior divisão, elongação e diferenciação celular, e, dessa forma, aumentam a capacidade de absorção de nutrientes e água, refletindo diretamente no desenvolvimento (germinação, crescimento e desenvolvimento, floração, frutificação, senescência) e na produtividade das culturas (CASTRO; VIEIRA, 2001).

Verificou-se influência da aplicação do bioestimulante no teor de N na parte aérea do feijoeiro, em todas as épocas de avaliação (Tabela 14). Na avaliação realizada em V_4, verificou-se que o tratamento de sementes com o produto proporcionou maior teor de N que o tratamento sem aplicação. Na avaliação em R_5, notou-se superioridade do TS em relação à testemunha, porém, sem diferença estatística do tratamento que recebeu o produto via foliar em V4. Já na avaliação realizada em R_6, verificaram-se maiores teores de N nos tratamentos que receberam aplicação do bioestimulante em V4 e V4+R5, sem diferir do tratamento com aplicação em TS+R5. Harb (1992) observou que a pulverização da soja com ácido giberélico aumentou o teor de N na parte aérea e raízes. Contudo, Oliveira et al. (1998) e Abrantes (2008) não verificaram efeito da aplicação de diferentes doses de bioestimulante, em diferentes épocas, no teor de N nas folhas do feijoeiro.

Tabela 13. Comprimento, superfície e diâmetro médio radicular nos estádios V_4, R_5 e R_6 do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Comprimento radicular (cm planta^{-1})	Superfície radicular (cm^2 planta^{-1})	Diâmetro médio radicular (cm)
	Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)		
Testemunha	1301,8a	197,3a	0,047b
TS	1239,7a	194,2a	0,049a
DMS	68,14	12,82	0,001
Teste F	8,41^{ns}	0,60^{ns}	19,29*
CV (%)	2,4	2,9	1,3
	Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)		
Testemunha	1364,11a	208,63a	0,048a
TS	1347,80a	208,06a	0,049a
V4	1328,66a	197,16a	0,047a
TS+V4	1310,36a	193,94a	0,045a
DMS	109,63	22,19	0,01
Teste F	0,88^{ns}	2,23^{ns}	0,50^{ns}
CV (%)	3,7	5,0	6,1
	Estádio R_6 (florescimento pleno)		
Testemunha	1423,5c	217,8c	0,050b
TS	1424,9c	216,9c	0,049b
V4	1457,1bc	224,5c	0,050b
R5	1630,4a	287,9a	0,055a
TS+V4	1562,8ab	243,1bc	0,050b
TS+R5	1637,7a	266,7ab	0,051ab
V4+R5	1507,7bc	221,5c	0,050b
TS+V4+R5	1401,0c	216,4c	0,050b
DMS	119,54	27,24	0,005
Teste F	14,14**	22,12**	3,11*
CV (%)	3,4	4,9	4,0

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Tabela 14. Teores de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, nos estádios V_4, R_5 e R_6, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S	$N\text{-}NH_4^+$	$N\text{-}NO_3^-$
	(g kg^{-1})							
	Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)							
Testemunha	33,2b	2,3a	19,7a	19,1a	4,4a	4,6a	0,77b	1,20a
TS	39,2a	2,3a	19,0a	19,5a	4,4a	5,0a	0,95a	1,43a
DMS	4,66	0,14	1,41	0,98	0,668	0,54	0,14	0,07
Teste F	16,98*	0,08^{ns}	2,34^{ns}	1,92^{ns}	0,08^{ns}	4,64^{ns}	14,57*	0,58^{ns}
CV (%)	5,7	7,8	5,2	9,3	6,8	5,0	7,4	21,8
	Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)							
Testemunha	29,1b	2,4a	15,3a	17,6a	4,4a	5,3a	0,60a	0,89a
TS	31,5a	2,3a	15,6a	17,6a	4,5a	5,4a	0,56a	0,89a
V4	30,2ab	2,2a	14,7a	17,5a	4,2a	5,4a	0,65a	0,87a
TS+V4	28,4b	2,1a	14,9a	16,2a	3,9a	4,6a	0,70a	0,91a
DMS	2,06	0,33	2,29	2,8	0,65	1,01	0,18	0,09
Teste F	8,38**	2,96^{ns}	1,52^{ns}	1,16^{ns}	2,30^{ns}	3,05^{ns}	2,12^{ns}	0,10^{ns}
CV (%)	3,1	6,6	7,0	10,4	9,4	8,8	13,2	12,7
	Estádio R_6 (florescimento pleno)							
Testemunha	21,5c	2,1a	21,8abc	17,5d	5,9abc	2,2f	1,34a	1,57de
TS	21,8c	2,0a	21,3c	18,1d	5,5cd	3,7a	1,58a	1,70cd
V4	25,6a	2,2a	21,8ab	20,0c	6,1ab	3,4b	1,61a	1,82c
R5	22,2c	2,3a	21,4bc	19,9c	5,6bcd	3,3bc	1,59a	1,71cd
TS+V4	22,9bc	2,1a	22,4abc	19,9c	5,3d	3,1c	1,47a	1,49e
TS+R5	24,6ab	2,3a	22,7ab	20,8bc	5,8abc	2,9d	1,77a	2,14b
V4+R5	25,9a	2,3a	23,0a	23,5a	6,2a	2,9d	1,73a	2,95a
TS+V4+R5	21,8c	2,1a	21,6c	21,8ab	6,1a	2,6e	1,47a	2,24b
DMS	1,67	0,41	1,37	1,72	0,44	0,18	0,21	0,18
Teste F	26,74**	1,90^{ns}	5,81**	28,30**	10,34^{ns}	153,46**	0,77^{ns}	164,60**
CV (%)	3,0	6,2	4,6	3,6	3,2	11,5	18,6	3,82

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Com relação ao acúmulo de N na parte aérea, verificaram-se efeitos significativos da aplicação de N apenas nas avaliações realizadas em V_4 e R_6 (Tabela 15). Em V_4, o maior teor de N proporcionou maior acúmulo desse nutriente na parte aérea da planta, já que a matéria seca não foi alterada. Na avaliação de R_6 a aplicação do produto em V4 proporcionou maior acúmulo de N na parte aérea, porém, diferindo significativamente apenas da testemunha.

O teor e acúmulo de P na parte aérea do feijoeiro não foram alterados pelos tratamentos (Tabelas 14 e 15). Resultados semelhantes foram observados por Abrantes (2008). Oliveira et al. (1998) verificaram maiores teores de P em alguns tratamentos que receberam aplicação do bioestimulante, seja via foliar ou TS, contudo sem resultados consistentes. Já Silva et al. (2009) observaram que o tratamento de sementes de feijão com o referido bioestimulante pode ser influenciado pelo teor de P e atuar no crescimento e desenvolvimento do vegetal.

Foram observados efeitos dos tratamentos no teor de K na parte aérea do feijoeiro apenas na avaliação realizada no estádio R_6 (Tabela 14). O tratamento que recebeu duas aplicações via foliar em V4+R5 apresentou maior teor de K, porém, diferindo apenas do tratamento que recebeu o produto via TS ou R5 ou TS+V4+R5. Contudo, a variação no teor de K pode ser efeito de diluição, já que as diferenças não se refletiram em mudanças na quantidade acumulada (Tabela 15).

Tanto para o teor quanto para a quantidade de Ca acumulada na parte aérea do feijoeiro, foram verificados efeito significativos apenas na avaliação realizada em R_6 (Tabelas 14 e 15). Os maiores valores para o teor e quantidades acumulada de Ca foram observados no tratamento que recebeu aplicação do produto em V4+R5. No caso do teor, esse tratamento foi superior a todos os outros, com exceção do tratamento com aplicação em TS+V4+R5 (Tabela 14). Já para a quantidade acumulada, o tratamento com aplicação em V4+R5 diferiu apenas da testemunha. Oliveira et al. (1998) também verificaram maiores teores de Ca em plantas de feijão que receberam aplicações de bioestimulante aos 32 ou 44 DAE ou em TS aos 32 DAE.

Tabela 15. Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, nos estádios V4, R5 e R6, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S	$N\text{-}NH_4^+$	$N\text{-}NO_3^-$
	(mg planta^{-1})							
	Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)							
Testemunha	81,3b	5,6a	48,2a	46,8a	10,8a	11,4a	1,9b	2,9b
TS	102,7a	6,0a	49,8a	51,1a	11,4a	13,2a	2,5a	3,7a
DMS	11,06	0,94	8,73	5,16	1,37	1,81	0,34	2,45
Teste F	37,76**	1,38^{ns}	0,32^{ns}	7,10^{ns}	1,96^{ns}	9,66^{ns}	30,81*	1,06^{ns}
CV (%)	5,3	7,2	7,9	4,7	5,5	6,6	6,8	25,3
	Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)							
Testemunha	157,4a	13,1a	82,7a	94,7a	24,0a	28,7a	3,3a	4,8a
TS	153,1a	11,2a	76,3a	85,7a	21,9a	26,4a	2,7a	4,3a
V4	142,8a	10,3a	69,5a	83,1a	19,9a	25,4a	3,1a	4,1a
TS+V4	148,0a	11,1a	74,3a	84,6a	20,1a	23,8a	3,7a	4,7a
DMS	22,50	2,79	19,04	17,13	4,40	6,64	1,32	1,03
Teste F	1,54^{ns}	3,36^{ns}	1,61^{ns}	1,80^{ns}	3,63^{ns}	1,84^{ns}	1,69^{ns}	2,27^{ns}
CV (%)	6,8	11,1	11,4	8,2	9,3	11,5	18,9	10,4
	Estádio R_6 (florescimento pleno)							
Testemunha	153,2b	15,1a	154,9a	124,6b	41,8a	15,9d	10,5a	11,2cd
TS	162,9ab	15,2a	160,5a	136,3ab	41,6a	27,9a	13,2a	12,8bcd
V4	208,7a	18,3a	176,9a	162,4ab	49,2a	27,2ab	13,0a	14,9bc
R5	171,9ab	17,4a	166,0a	154,5ab	43,6a	25,3abc	12,2a	13,2bcd
TS+V4	161,5ab	15,0a	157,5a	140,2ab	37,4a	21,9abcd	10,4a	10,5d
TS+R5	176,7ab	16,2a	163,3a	149,0ab	41,7a	20,8bcd	12,8a	15,4b
V4+R5	183,7ab	16,2a	162,9a	166,6a	43,7a	20,6bcd	12,7a	20,9a
TS+V4+R5	162,3ab	15,8a	156,8a	162,4ab	45,5a	19,2cd	10,9a	16,7b
DMS	50,84	4,68	42,73	41,73	12,46	6,83	6,13	4,15
Teste F	2,67*	1,38^{ns}	0,60^{ns}	2,85*	1,70^{ns}	8,28**	0,83^{ns}	14,52**
CV (%)	12,4	12,2	11,1	11,8	12,2	12,9	21,6	12,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

O teor de Mg na parte aérea não foi influenciado pela aplicação do bioestimulante, com os maiores valores sendo observados nos tratamentos com aplicação em V4+R5 ou TS+V4+R5 (Tabelas 14). Contudo, os resultados não foram muito consistentes já que os tratamentos que proporcionaram os maiores teores não diferiram da testemunha. Oliveira et al. (1998) também observaram pequenas variações no teor foliar de Mg em feijoeiro submetido a diferentes formas de aplicação de bioestimulante. Apesar das variações no teor, o acúmulo de Mg na parte aérea não foi afetado pelos tratamentos. Abrantes (2008) também não verificaram efeitos da aplicação do mesmo produto via foliar no teor de Mg nas folhas de cultivares de feijoeiro.

Com relação ao S, verificaram-se efeitos dos tratamentos apenas na avaliação realizada no estádio R_6 (Tabela 14). A aplicação do bioestumulante, principalmente via TS proporcionou maior teor de S na parte aérea das plantas o que se refletiu na quantidade acumulada desse nutriente nas plantas, já que não foi observado efeito significativo na massa de matéria seca da parte aérea (Tabela 8). Oliveira et al. (1998) e Abrantes (2008) não verificaram efeito da aplicação de bioestimulante no teor de S nas folhas do feijoeiro.

Apenas na avaliação realizada no estádio V_4 foram observadas diferenças no teor e acúmulo de $N\text{-}NH_4^+$ na parte aérea, com os maiores valores sendo observados no tratamento que recebeu aplicação do bioestimulante em TS (Tabelas 14 e 15). Quanto ao $N\text{-}NO_3^-$, verificou-se maior acúmulo deste no tratamento que recebeu o produto em TS, na primeira avaliação (Tabela 10). Já na avaliação realizada em R_6, o tratamento que recebeu aplicações via foliar em V4+R5 apresentou os maiores teor e acúmulo de $N\text{-}NO_3^-$ (Tabelas 14 e 15).

Vale ressaltar que o tratamento com aplicações do bioestimulante em V4+R5 também apresentou o maior teor de N-total. Vellini; Rosolem (1997) observaram que o bioestimulante pode ter efeito positivo na produção de proteína, quando associado à Co e Mo, o que poderia estar relacionado com uma melhor nutrição nitrogenada da planta.

Nesse sentido, alguns estudos têm indicado que a aplicação de biorreguladores favorece a absorção e a assimilação de N pelas plantas, levando a maior produtividade e teor de proteína (CATE; BRETELE, 1982; CHANDA et al., 1998; RUIZ et al, 2000), apesar de Lima et al (2006a; b) não terem verificado interação entre doses de bioestimulante e N para o algodoeiro. Abrantes (2008) também não verificaram efeito da

aplicação de bioestimulante via foliar na nutrição nitrogenada do feijoeiro. Silva et al. (2009) não observaram efeito do mesmo produto nos teores de macronutrientes da parte aérea do feijoeiro quando aplicaram 5,0 mL kg^{-1} de sementes de feijão, assim como Lana et al. (2009) quando aplicaram o mesmo bioestimulante nas sementes de feijão e via foliar aos 15 e 30 dias após a emergência e no pré-florescimento.

De acordo com a Tabela 16, observa-se que para o teor de Cu somente no estádio R_5 foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos e a maior média foi proporcionada pelo tratamento TS+V4 que foi 162,5% superior à testemunha, o que refletiu na sua quantidade acumulada.

A aplicação de bioestimlante nos estádios R_5 e R_6 promoveu diferença significativa no teor de Zn, para o primeiro estádio a aplicação do produto nas sementes associada à pulverização foliar no estádio V4 (tratamento TS+V4) promoveu acréscimos no teor desse micronutriente e foi encontrada a maior média, e mesmo todas as outras formas de aplicação do bioestimulante, via semente ou foliar, proporcionaram teores superiores à testemunha; para o segundo a aplicação do produto promoveu significativa redução nos teores de Zn o que pode ter sido devido a um desbalanço metabólico. Abrantes (2008) também não encontrou resultados significativos quando avaliou a aplicação desse produto nos estádios V_4 e R_5 em dois cultivares de feijão, assim como Oliveira et al. (1998) avaliando diferentes épocas de aplicação do bioestimulante nessa mesma cultura.

Gianquinto et al. (2000) esclarecem que uma possível redução nos teores de Zn pode ser devido à interação entre esse micrantriente e o P, ou seja, um aumento na concentração de P promoveria redução, incrementaria/induziria a uma deficiência no teor de Zn devido à uma diluição ou competição; apesar de resultados não significativos para o teor de P (Tabela 15), no estádio R_6 formas e épocas de aplicação do bioestimulante promoveram médias superiores à testemunha (exceto para o tratamento TS+V4).

A aplicação do bioestimulante não promoveu incrementos nos teores de Mn em nenhum estádio de crescimento avaliado (Tabela 16), e, em todos eles (estádios V_4, R_5 e R_6) houve efeito significativo do uso de bioestimulante no teor de Fe; nos estádios V_4 e R_5 a aplicação do produto promoveu médias superiores à testemunha, comportamento semelhante pode ser observado no estádio R_6, exceto quando pulverização foliar no estádio V4, associada ou não, foi utilizada (tratamentos V4, TS+V4 e V4+R5); mesmo tendo sido

observado esse efeito, o tratamento TS+V4+R5 proporcionou a maior média para o teor de Fe e esse comportamento foi refletido na sua quantidade acumulada. Esse micronutriente atua na ativação de vários sistemas enzimáticos, tais como hidrogenase fumárica, catalase, oxidase e citocromos, entrando na composição de algumas enzimas como as ferridoxinas, redutase do nitrato, nitrogenase, entre outras. Dessa forma, o incremento do teor de Fe favoreceu o metabolismo do feijoeiro, como comprovado nesse trabalho.

Com relação ao teor de B, sabe-se que existe uma relação entre esse nutriente e a auxina endógena e/ou exógena. Dyar; Webb (1961) já observavam a interação entre esse regulador, o teor de B e o crescimento de primórdios radiculares. Esses autores, assim como Jarvis et al. (1983) e Jarvis et al. (1984), concluíram que o B é responsável pelo controle da concentração da auxina na formação de raiz (já que o excesso poderia afetar todo o metabolismo), da atividade da peroxidase ou ainda no controle dos compostos fenólicos (por exemplo ortodifenóis que por complexação com o borato atua na diminuição ou aumento da atividade da auxina).

Sabe-se que a diminuição da concentração da auxina pode afetar o metabolismo, mas a adição de B, numa concentração superior, não favorece sua atividade, e acredita-se que plantas, na presença de B, apresentam um maior crescimento radicular e maior atividade metabólica devido à interação entre esse elemento e a auxina (BLEVINS; LUKASZEWSKI, 1998). Isso pode ser observado no presente trabalho onde a aplicação do bioestimulante (que contém em sua formulação o ácido indolbutírico) promoveu diferenças significativas e os tratamentos TS e TS+R5 proporcionaram os maiores teores de B, semelhante ao que foi observado na sua quantidade acumulada (Tabela 17).

No estádio R_5 o tratamento TS+V4 promoveu incrementos de 77,8% no acúmulo de Zn em relação à testemunha (Tabela 17), e embora no estádio R_6 os tratamentos terem promovido redução no teor desse nutriente, para o seu acúmulo não houve diferença significativa no mesmo estádio, apesar de todas as médias terem sido inferiores à testemunha. O acúmulo de Mn foi influenciado somente no estádio V_4 quando o tratamento TS proporcionou a maior média para esse micronutriente.

Tabela 16. Teores de nutrientes (Cu, Zn, Mn, Fe e B) na parte aérea do feijoeiro, nos estádios V_4, R_5 e R_6, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Cu	Zn	Mn	Fe	B
	(mg kg^{-1})				
	Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)				
Testemunha	7,7a	16,0a	16,3a	14,7b	49,8b
TS	7,5a	16,6a	16,2a	16,2a	62,4a
DMS	2,03	6,49	1,65	0,9	7,6
Teste F	$0,09^{ns}$	$0,09^{ns}$	$0,03^{ns}$	28,96*	27,53*
CV (%)	11,7	17,8	4,5	2,6	6,1
	Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)				
Testemunha	7,8d	18,5d	16,9a	26,4c	69,6ab
TS	10,6c	24,1c	15,4a	30,4b	76,0a
V4	16,6b	29,2b	18,1a	42,1a	67,0b
TS+V4	20,8a	34,1a	15,8a	30,3bc	67,7b
DMS	2,4	3,4	3,03	3,9	6,5
Teste F	109,13**	73,99**	$3,10^{ns}$	58,57**	7,87**
CV (%)	8,0	5,9	8,3	5,6	4,2
	Estádio R_6 (florescimento pleno)				
Testemunha	8,3a	16,2a	13,7a	24,5c	48,8cd
TS	6,1a	14,4ab	14,6a	28,1bc	45,0cd
V4	8,1a	14,0b	14,1a	25,3c	43,7cd
R5	8,4a	13,7b	14,7a	30,4bc	42,3d
TS+V4	6,2a	14,5ab	12,9a	22,5c	46,6bc
TS+R5	6,3a	13,1b	14,3a	39,0ab	58,7a
V4+R5	8,1a	14,7ab	14,5a	25,4c	36,9e
TS+V4+R5	6,7a	13,6b	13,4a	46,6a	41,9d
DMS	3,0	2,0	2,1	11,1	3,3
Teste F	$2,63^{ns}$	5,27**	$2,19^{ns}$	12,85**	83,02**
CV (%)	17,6	5,8	6,2	15,5	3,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns é não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Tabela 17. Quantidade acumulada de nutrientes (Cu, Zn, Mn, Fe e B) na parte aérea do feijoeiro, nos estádios V_4, R_5 e R_6, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Cu	Zn	Mn	Fe	B
	(µg planta^{-1})				
	Estádio V_4 (3ª folha totalmente expandida)				
Testemunha	18,9a	39,2a	40,0b	36,2b	121,8b
TS	19,7a	43,6a	42,5a	42,5a	163,5a
DMS	4,0	18,2	2,1	4,0	16,1
Teste F	0,44^{ns}	0,58^{ns}	14,16*	25,6*	68,12**
CV (%)	9,3	19,5	2,3	4,5	5,0
	Estádio R_5 (início do surgimento de botões florais)				
Testemunha	42,6c	100,1c	92,2a	143,8b	378,1a
TS	51,8c	118,0bc	75,0a	147,7b	370,7a
V4	75,5b	138,0b	85,9a	199,3a	317,3a
TS+V4	108,9a	178,0a	82,7a	158,1b	353,5a
DMS	19,6	25,3	23,7	34,6	71,5
Teste F	44,3**	34,25**	1,79^{ns}	10,53**	2,89^{ns}
CV (%)	12,8	8,6	12,8	9,7	9,2
	Estádio R_6 (florescimento pleno)				
Testemunha	59,0a	115,2a	97,3a	174,0c	346,8ab
TS	45,9a	108,3a	109,6a	208,7bc	339,2ab
V4	65,9a	114,0a	114,0a	205,4bc	355,7ab
R5	65,0a	105,9a	113,8a	234,9bc	322,7ab
TS+V4	43,1a	101,8a	90,8a	158,9c	328,2ab
TS+R5	45,8a	94,0a	103,0a	283,2ab	422,0a
V4+R5	56,9a	114,0a	102,7a	178,9c	261,4b
TS+V4+R5	50,1a	101,0a	99,3a	346,7a	311,7b
DMS	29,5	28,6	27,7	92,1	96,6
Teste F	2,07^{ns}	1,36^{ns}	1,97^{ns}	10,64**	4,89**
CV (%)	23,1	11,4	11,3	17,3	12,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns é não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Apesar de alguns efeitos na nodulação, área foliar, crescimento radicular e teor e acúmulo de alguns nutrientes na parte aérea, não foram observados efeito nos

componentes da produção e na produtividade de grãos do feijoeiro (Tabela 18). Oliveira et al. (1998) e Almeida et al. (2008) também não verificaram efeito da aplicação de bioestimulante, seja via foliar ou via tratamento de sementes, na produtividade do feijoeiro. Por outro lado, Cobucci et al. (2005) observaram incremento de 30% em relação à testemunha quando aplicaram o bioestimulante no estádio R_5.

Tabela 18. Número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa média de 100 grãos, massa de grãos por planta e estimativa do teor de proteína bruta nos grãos do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Nº de vagens/planta	Nº de grãos por vagem	Massa de 100 grãos	Massa de grãos/planta	Teor de proteína nos grãos
	(nº planta^{-1})	(nº planta^{-1})	(g)	(g planta^{-1})	(g kg^{-1})
Testemunha	4,6a	4,6a	20,1a	4,2a	247,0a
TS	4,5a	4,5a	17,9a	3,6a	247,8a
V4	4,5a	4,8a	19,4a	4,1a	253,3a
R5	4,3a	4,8a	20,2a	4,2a	251,3a
TS+V4	4,8a	4,9a	16,5a	4,0a	261,4a
TS+R5	4,2a	4,5a	17,0a	3,1a	263,4a
V4+R5	4,5a	5,3a	17,3a	4,0a	261,4a
TS+V4+R5	3,9a	5,0a	16,6a	3,2a	239,1a
DMS	1,4	2,04	7,3	2,18	73,63
Teste F	0,86^{ns}	0,38^{ns}	1,01^{ns}	0,97^{ns}	0,30^{ns}
CV (%)	13,4	17,9	17,0	18,0	12,26

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns é não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

6.1.2. Experimento II (campo – safras “das águas” e “da seca”)

Observa-se na Tabela 19, referente ao estádio V_4, que não foram encontrados resultados significativos para o índice relativo de clorofila e massa de matéria seca do feijoeiro quando foi aplicado o bioestimulante nas sementes, tanto na safra “das águas” quanto na safra “da seca”. Porém, Campos et al. (2008), quando aplicaram

bioestimulante na soja, observaram que as plantas tratadas mantiveram alto valor SPAD quando comparadas com a testemunha, eles ainda explicam que isso pode ser devido ao fato da giberelina e citocinina inibirem a degradação da clorofila, assim como a citocinina tende a aumentar ou manter o teor de clorofila nos vegetais.

Para a área foliar e atividade da nitrato redutase foi observado, na safra "das águas", incrementos de 11,7% e 23,8%, respectivamente, em relação à testemunha (Tabela 19). Na safra "da seca" os incrementos também foram observados, mas esses ocorreram somente na atividade da nitrato redutase com um incremento de 19,9% quando comparado à testemunha. Modesto et al. (1996) relatam que os efeitos mais significativos da giberelina ocorrem durante o processo de crescimento, o que pode promover o aumento da área foliar, e os autores Vieira; Castro (2004) explicam que o bioestimulante age de forma eficiente e eficaz no desenvolvimento foliar o que pode contribuir para o incremento da sua área e consequentemente da produtividade das culturas.

Na safra "das águas", as doses de N aplicadas em cobertura influenciaram todas as variáveis, exceto a atividade da nitrato redutase, porém, na safra "da seca" somente na atividade da nitrato redutase foi observado um crescimento linear (Tabela 19). O aumento linear no índice relativo de clorofila com a aplicação de N em cobertura, na safra "das águas", pode ser devido à participação desse nutriente na estrutura dessa molécula. Soratto et al. (2004) também constataram aumento nos valores dessa variável com o incremento nas doses de N aplicadas. Os mesmos autores citam que maiores doses de N disponíveis no solo aumentaram o teor do pigmento, até certo ponto. Maia (2011) observou que aplicação de diferentes doses de N na semeadura influenciaram o índice relativo de clorofila e relata a exigência inicial da cultivar Pérola em relação à disponibilidade desse nutriente no solo.

A massa de matéria seca na safra "das águas" teve incremento até dose máxima estimada de 150 kg ha^{-1} de N (Tabela 19). Soratto et al. (2005; 2006) observaram aumento na produção de massa de matéria seca pelo feijoeiro em função da aplicação de N em cobertura. O acréscimo na dose de N aplicada aumenta a disponibilidade desse nutriente, dessa forma um incremento na absorção pelas plantas é observado, promovendo a produção de matéria seca, uma vez que o N tem influência direta na fotossíntese e crescimento da planta (MALAVOLTA et al., 1997). Perez (2010) em seu experimento com feijão na safra "da seca",

sob plantio direto, também observou que aplicação de 60 kg ha^{-1} de N, no dia da semeadura, aumentou a produção de matéria seca do feijoeiro cultivar Pérola.

Tabela 19. Índice relativo de clorofila, área foliar, massa de matéria seca da parte aérea e atividade da nitrato redutase do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Índice relativo de clorofila		Área foliar		Matéria seca da parte aérea		Atividade da nitrato redutase	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	— (SPAD) —		— (cm^2 $pl.^{-1}$) —		— (g $planta^{-1}$) —		— (µM g h^{-1}) —	
Testemunha	39,7a	43,5a	216,1b	269,3a	1,2a	1,8a	42,9b	80,4b
TS	40,2a	43,5a	241,5a	238,2a	1,3a	1,8a	53,1a	96,4a
DMS	2,4	1,8	25,0	32,2	0,3	0,3	11,6	6,1
CV (%)	5,3	3,7	9,7	11,3	21,9	13,4	21,6	6,1
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	35,6	42,9	183,7	256,0	1,0	1,7	50,5	63,5
45	40,4	44,0	228,5	269,3	1,4	1,9	47,5	82,8
90	39,9	42,6	241,6	248,3	1,3	1,8	42,4	101,9
180	43,9	44,5	261,5	241,2	1,3	1,9	51,5	105,3
Efeito	$L^{(1)}$	ns	$L^{(2)}$	ns	$Q^{(3)}$	ns	ns	$L^{(4)}$
CV (%)	7,6	2,9	24,1	35,5	17,6	22,8	27,0	10,4
Interação B x N	$0,32^{ns}$	$0,99^{ns}$	10,11*	$0,27^{ns}$	$1,62^{ns}$	$0,39^{ns}$	$0,89^{ns}$	18,1**

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente). $^{(1)}$ $y = 36,7 + 0,04x$ $R^2 = 0,86$**; $^{(2)}$ $y = 197,6 + 0,40x$ $R^2 = 0,85$*; $^{(3)}$ $y = 1,06 + 0,006x - 0,00002x^2$ $R^2 = 0,80$*; $^{(4)}$ $y = 70,5 + 0,23x$ $R^2 = 0,81$**.

Com o desdobramento da interação (Tabela 20), observa-se que o uso de bioestimulante nas sementes (tratamento TS) promoveu incrementos na área foliar em todas as doses utilizadas desse nutriente, inclusive a dose zero, porém, resultados significativos foram encontrados somente nas doses de 90 e 180 kg ha^{-1} de N. No tratamento que recebeu a aplicação do bioestimulante nas sementes, a aplicação de N em cobertura promoveu incremento linear da área foliar das plantas no estádio V_4. Resultado semelhante foi observado para atividade da nitrato redutase na safra "da seca" (Tabela 21).

Tabela 20. Área foliar do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	Área foliar (cm^2 $pl.^{-1}$) – Águas				
Testemunha	181,5a	203,5a	203,4b	226,2b	ns
TS	185,9a	253,5a	279,5a	296,8a	y=189,53+0,66x R^2 =0,85*

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 70,4

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

Tabela 21. Atividade da nitrato redutase (ANR) no feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	ANR (cm^2 pl^{-1}) - Seca				
Testemunha	57,2b	90,5a	94,5b	79,2b	ns
TS	69,8a	75,0b	109,4a	131,3a	y=67,5+0,37x R^2 =0,93**

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 12,4

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

No estádio R_5, somente a atividade da nitrato redutase foi influenciada pela aplicação do bioestimulante, na safra "das águas", sendo que a pulverização foliar no estádio V4 (tratamento V4) proporcionou valor 15,7% superior à testemunha (Tabela 22). Na safra "da seca", apesar de resultados não significativos, os tratamentos com o bioestimulante promoveram decréscimos em relação a testemunha.

Tabela 22. Índice relativo de clorofila, área foliar, massa de matéria seca da parte aérea e atividade da nitrato redutase do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Índice relativo de clorofila		Área foliar		Matéria seca da parte aérea		Atividade da nitrato redutase	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	— (SPAD) —		— (cm^2 $pl.^{-1}$) —		— (g $planta^{-1}$) —		— (µM g h^{-1}) —	
Testemunha	42,6a	43,4a	553,9a	457,5a	3,2a	3,5a	46,4ab	103,4a
TS	41,9a	43,4a	474,7a	450,2a	2,9a	3,5a	49,5ab	84,3a
V4	42,5a	43,7a	524,4a	496,7a	3,0a	3,3a	53,7a	98,6a
TS+V4	42,7a	42,9a	496,8a	472,8a	2,9a	3,7a	43,5b	89,5a
DMS	3,3	1,2	191,2	169,2	1,0	1,3	8,8	22,5
CV (%)	7,1	2,5	33,8	32,7	30,5	33,3	16,6	21,7
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	40,4	42,5	373,6	450,9	2,1	3,3	45,4	76,6
45	42,9	43,1	533,1	467,0	3,1	3,5	50,3	98,8
90	43,1	43,6	531,3	439,6	3,2	3,3	46,1	111,3
180	43,3	44,2	611,8	519,7	3,7	3,7	51,3	89,1
Efeito	$L^{(1)}$	$L^{(2)}$	$L^{(3)}$	ns	$L^{(4)}$	ns	ns	$Q^{(5)}$
CV (%)	6,5	2,9	22,8	27,3	25,7	23,4	16,8	17,0
Interação B x N	$0,2^{ns}$	$1,7^{ns}$	$0,8^{ns}$	$2,3^{ns}$	$1,5^{ns}$	$2,4^{ns}$	5,3*	12,4**

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns é não-significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}$ $y = 41,4 + 0,01x$ $R^2=0,57$* ; $^{(2)}$ $y = 42,6 + 0,009x$ $R^2=0,97$** ; $^{(3)}$ $y = 421,30 + 1,16x$ $R^2=0,79$** ; $^{(4)}$ $y = 2,40 + 0,008x$ $R^2=0,82$** ; $^{(5)}$ $y = 76,1 + 0,68x – 0,003x^2$ $R^2=0,99$**.

As doses de N não afetaram a atividade dessa enzima na safra "das águas", mas na safra "da seca" acréscimos foram observados até a dose de 90 kg ha^{-1}, ao contrário do índice relativo de clorofila, área foliar e massa de matéria seca do feijoeiro, que tiveram aumentos lineares à medida que se aumentou a dose desse nutriente até 180 kg ha^{-1}, estes resultados indicam que o fornecimento de N para a cultura proporcionou um maior aproveitamento do fertilizante aplicado na produção de biomassa pelo feijoeiro. Coelho et al. (1998) observaram incrementos de até 50% na atividade da enzima nitrato redutase quando aplicaram 40 kg ha^{-1} de N em cobertura no feijoeiro cv. Ouro, e eles explicam que essa enzima

é induzida por um substrato, ou seja, necessita do nitrato para ser sintetizada, e na maior dose de N aplicada provavelmente ocorreu maior disponibilidade desse nutriente para as plantas.

Mediante desdobramento da interação, observa-se que com o tratamento das sementes com bioestimulante (TS), as menores doses de N promoveram acrécimo na atividade da nitrato redutase, porém, a partir da aplicação de 90 kg ha^{-1} de N a atividade da enzima foi reduzida, na safra "das águas" (Tabela 23). Na safra "da seca" esse efeito do N na atividade da redutase do nitrato foi observado nos tratamentos sem aplicação do bioestimulante (testemunha) e com aplicação em V4 e TS+V4.

Tabela 23. Atividade da nitrato redutase (ANR) do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	ANR (µM g h^{-1}) - Águas				
Testemunha	42,8a	45,8bc	43,5a	53,5a	ns
TS	50,9a	61,8a	50,4a	34,9b	$y = 52,9 + 0,137x - 0,001x^2$ $R^2=0,83$*
V4	43,8a	58,8ab	52,3a	59,8a	ns
TS+V4	43,9a	34,9c	38,3a	56,9a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 15,2					
	ANR (µM g h^{-1}) - Seca				
Testemunha	95,7a	115,0a	124,4a	78,1a	$y = 95,0 + 0,7x - 0,004x^2$ $R^2=0,99$**
TS	75,0a	89,4a	66,9b	105,7a	ns
V4	67,3a	106,6a	134,9a	85,6a	$y = 65,3 + 1,34x - 0,007x^2$ $R^2=0,98$**
TS+V4	68,3a	89,0a	118,8a	86,9a	$y = 63,9 + 0,9x - 0,004x^2$ $R^2=0,83$*
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 32,6					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

A massa de matéria seca da parte aérea (safra "das águas") e a atividade da nitrato redutase (safra "das águas" e "da seca"), avaliadas no estádio R_6, foram influenciadas pela aplicação do bioestimulante (Tabela 24). Para a massa de matéria seca todos os tratamentos foram superiores à testemunha e naquele em que foi aplicado o

bioestimulante tanto via semente quanto em pulverização foliar (tratamento TS+V4+R5) apresentou valor 24,3% superior à esta, e é nesse estádio que o feijoeiro acumula mais matéria seca.

Para a atividade da enzima nitrato redutase, comportamento semelhante foi observado entre os estádios avaliados na safra “das águas”, ao contrário do que foi observado na safra “da seca”, onde no tratamento V4+R5 foram encontrados os maiores acréscimos. No estádio R_6, assim como nos estádios V_4 e R_5, os tratamentos que receberam aplicações com o bioestimulante foram significativamente influenciados (Tabela 24), porém, em todos eles pode-se observar que aqueles que proporcionaram as maiores médias foram os que receberam aplicação do produto através do tratamento de sementes (TS) ou aplicação foliar (V4 ou R5). Nos estádios V_4, R_5 e R_6 (safra “das águas”) as maiores médias dessa variável foram 23,8%; 15,7% e 15,7% superiores à testemunha, tratamentos TS, V4 e TS respectivamente (Tabelas 19, 21 e 23). Os tratamentos TS+V4 nos estádios R_5 e R_6 proporcionaram as menores médias e foram 6,2% e 40,0% inferiores à testemunha.

O índice relativo de clorofila, a área foliar e a massa de matéria seca, no estádio R_6, tiveram aumentos lineares à medida que se aumentou as doses de N aplicadas (Tabela 24). Soratto et al. (2004) constataram resposta quadrática do teor de clorofila com o incremento nas doses de N. Segundo esses autores, maiores doses de N disponíveis no solo aumentaram o teor do pigmento, até certo ponto, indicando a não produção de clorofila pelas plantas além da quantidade de que necessitam. O N tem extrema importância na produção de matéria seca, por se tratar de constituinte da molécula de clorofila e, portanto, ter influência na fotossíntese e promovendo o crescimento vegetativo do feijoeiro (SILVEIRA; DAMASCENO, 1993), dessa forma vários trabalhos encontrados na literatura confirmam o aumento do acúmulo da massa de matéria seca na parte aérea do feijoeiro, com o aumento das doses de N aplicadas em cobertura (STONE; MOREIRA, 2001; CHIDI et al., 2002, ARF et al., 2004; SORATTO et al., 2005; FARINELLI et al., 2006), já a atividade da nitrato redutase não foi influenciada pelas diferentes doses desse nutriente.

Tabela 24. Índice relativo de clorofila, área foliar, massa de matéria seca da parte aérea e atividade da nitrato redutase do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Índice relativo de clorofila		Área foliar		Matéria seca da parte aérea		Atividade da nitrato redutase	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	— (SPAD) —		— (cm^2 $pl.^{-1}$) —		— (g $planta^{-1}$) —		— (µM g h^{-1}) —	
Testemunha	44,7a	43,3a	748,0a	784,1a	3,7c	6,1a	71,8ab	94,7ab
TS	44,1a	44,1a	674,6a	829,3a	4,0abc	6,0a	83,1a	93,1bc
V4	44,5a	43,6a	784,9a	788,3a	4,1abc	6,2a	55,0bcd	110,2ab
R5	44,2a	43,6a	753,7a	838,3a	4,4ab	5,8a	65,3abc	71,4c
TS+V4	44,5a	43,6a	702,1a	840,8a	4,0bc	6,3a	43,1d	108,3ab
TS+R5	44,9a	43,2a	732,8a	928,3a	4,4ab	7,2a	45,1cd	87,9bc
V4+R5	44,7a	43,3a	673,2a	844,3a	4,5ab	6,0a	54,4bcd	120,0a
TS+V4+R5	44,7a	43,6a	726,2a	882,1a	4,6a	6,2a	48,9cd	104,7ab
DMS	1,3	1,7	264,5	357,3	0,6	2,6	20,7	25,9
CV (%)	2,4	3,4	30,8	35,8	11,9	35,4	29,9	22,1
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	43,7	42,1	524,0	757,6	3,1	5,4	60,83	71,6
45	44,1	43,3	697,2	793,8	4,3	6,1	51,01	101,5
90	44,3	44,4	756,7	852,5	4,5	6,3	59,15	109,7
180	46,0	44,9	919,6	963,8	4,9	7,1	62,40	112,4
Efeito	$L^{(1)}$	$Q^{(2)}$	$L^{(3)}$	$L^{(4)}$	$L^{(5)}$	$L^{(6)}$	ns	$Q^{(7)}$
CV (%)	3,2	2,9	27,1	27,3	15,3	28,3	27,3	24,8
Interação B x N	$0,7^{ns}$	$1,0^{ns}$	$0,7^{ns}$	$1,0^{ns}$	$0,9^{ns}$	1,3*	13,4**	3,1*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}$ $y = 43,56 + 0,01x$ $R^2 = 0,94$* ; $^{(2)}$ $y = 42,1 + 0,003x - 0,0001x^2$ $R^2=0,98$** ; $^{(3)}$ $y = 560,7 + 2,08x$ $R^2 = 0,96$** ; $^{(4)}$ $y = 749,8 + 1,2x$ $R^2=0,99$** ; $^{(5)}$ $y = 3,5 + 0,009x$ $R^2 = 0,79$** ; $^{(6)}$ $y = 5,5 + 0,009x$ $R^2 = 0,96$** ; $^{(7)}y = 72,9 + 0,7x - 0,002x^2$ $R^2=0,97$**.

Com o desdobramento da interação (Tabela 25), incrementos na massa de matéria seca foram observados quando tratamento de sementes com o bioestimulante foi associado à pulverização no estádio R5 (TS+R5), porém, com esse tratamento diferiu significativamente apenas daquele que recebeu aplicações em V4+R5.

Tabela 25. Massa de matéria seca da parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	Matéria seca da parte aérea (g $pl.^{-1}$) - Seca				
Testemunha	4,7a	7,4a	5,1a	7,3ab	ns
TS	6,9a	5,5a	5,3a	6,5ab	ns
V4	5,3a	5,7a	5,9a	7,8ab	ns
R5	4,6a	6,1a	6,1a	6,2ab	ns
TS+V4	5,8a	6,7a	6,6a	6,0ab	ns
TS+R5	5,3a	6,9a	6,8a	10,0a	$y = 5,3 + 0,02x$ $R^2 = 0,93$**
V4+R5	5,4a	5,3a	7,6a	5,5b	ns
TS+V4+R5	5,0a	5,3a	7,1a	7,3ab	ns

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 4,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Mediante o desdobramento da interação B x N, verifica-se que os tratamentos com aplicação do bioestimulante em TS ou V4 promoveram decréscimos na atividade da enzima nitrato redutase, quando se aplicou as maiores doses de N na safra "das águas" (90 e 180 kg ha^{-1} de N), nessas, esses tratamentos (TS ou V4) e todos os outros foram inferiores à testemunha (Tabela 26).

Na safra "da seca" maiores incrementos foram observados quando foi realizado tratamento de sementes com o bioestimulante (Tabela 26). Um dos principais fatores para a diminuição da atividade ou total inativação da enzima nitrato redutase é a presença do amônio (SOMERS, et al., 1983, KONNERUP; BRIX, 2010). Os tratamentos TS e V4 na safra "das águas" (proporcionaram maior atividade da enzima) promoveram menores teores e quantidades acumuladas de amônio (exceto na avaliação do estádio V_4). Apesar de não ter havido diferença estatística nos estádios V_4 e R_5, ao contrário da avaliação do estádio R_6, observa-se que os tratamentos que obtiveram maiores médias nos teores e quantidades

acumuladas de amônio, obtiveram menor atividade da enzima nitrato redutase, e ainda, nas maiores doses de N também se encontrou as menores atividades (na safra “das águas”).

Tabela 26. Atividade da nitrato redutase (ANR) do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	ANR (µM g h^{-1}) - Águas				
Testemunha	7,7c	39,4b	129,5a	110,5a	$y = -2,49 +1,83x -0,006x^2$ $R^2=0,87$**
TS	143,4a	76,1a	43,2bc	69,8b	$y =143,1-1,83x +0,008x^2$ $R^2=0,99$**
V4	71,7b	46,6ab	77,0b	24,6c	$y = 72,12-0,22x$ $R^2=0,49$*
R5	72,7b	66,6ab	43,5bc	78,6ab	ns
TS+V4	45,3b	44,4ab	37,4c	45,3bc	ns
TS+R5	41,3bc	43,8ab	45,2bc	50,0bc	ns
V4+R5	63,5b	47,8ab	43,6bc	62,7b	ns
TS+V4+R5	40,9bc	43,4ab	53,8bc	57,7bc	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 35,8					
	ANR (µM g h^{-1}) - Seca				
Testemunha	94,8a	90,2ab	117,3ab	76,6b	ns
TS	80,8ab	109,4ab	97,8bc	84,6ab	ns
V4	91,8a	106,2ab	116,8ab	126,0ab	ns
R5	58,4ab	68,5b	48,9c	109,8ab	ns
TS+V4	47,3ab	131,5a	121,6ab	132,8a	ns
TS+R5	38,4b	101,9ab	90,7bc	120,4ab	ns
V4+R5	78,2ab	123,6a	158,9a	119,4a	ns
TS+V4+R5	82,5ab	81,0a	125,7ab	129,6a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 52,3					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Na safra “da seca”, quando não foi aplicado N em cobertura, semelhanças entre os diferentes tratamentos com bioestimulante foram observadas, porém a partir da dose de 45 kg ha^{-1} de N, os tratamentos com aplicação do bioestimulante em TS+V4, V4+R5 e TS+V4+R5 promoveram incremento na atividade da nitrato redutase no estádio R_6 (Tabela 26).

Observa-se nas Tabelas 19, 22 e 24, que valores inferiores para a atividade da nitrato redutase foram observados na safra “das águas”. Muitos são os fatores que afetam a atividade dessa enzima, entre eles o déficit hídrico, intensidade luminosa, condições de estresse e até o encharcamento do solo. Dessa forma a diminuição da atividade da nitrato redutase influenciaria no metabolismo do N, assim como no catabolismo de aminoácidos, proteínas e outros compostos nitrogenados. Variações nos valores encontrados podem ter sido devido a influência das épocas de cultivo. Maior precipitação pluvial nos diferentes estádios de desenvolvimento da cultura na safra “da seca” (Figura 1), assim como elevada temperatura máxima observada, podem ter sido fatores predominantes para as diferentes médias encontradas.

Com relação aos nutrientes, no estádio V_4, verifica-se que na safra “das águas” os teores de P foram influenciados pelos fatores estudados, bem como, pela interação entre eles (Tabela 27). Teixeira et al. (2010) observaram que o teor de Ca foi influenciado pela aplicação de N de forma crescente até a dose calculada de 56 kg ha^{-1}, assim como os teores de N, K e S quando aplicaram 0, 40, 80 e 120 kg ha^{-1} de N no feijão BRS-MG Talismã. Já Teixeira et al. (2000) observaram, no feijão cultivar Pérola, um decréscimo no teor de Ca à medida em que se aumentaram as doses de N e explicam que isso pode ter sido devido ao efeito da diluição proporcionado pelo maior crescimento.

Mediante desdobramento da interação, observa-se que quando ocorreu aplicação do bioestimulante na semente (tratamento TS), na presença da aplicação de N em cobertura, menores teores de P foram encontrados, e decréscimos aconteceram à medida que se aumentou a dose de N (Tabela 28).

No estádio R_5, somente o teor de K foi influenciado pela aplicação, via semente, do bioestimulante na safra“das águas” (Tabela 29). A aplicação do bioestimulante, via semente ou através da pulverização foliar, não influenciou os teores de N, P e Ca. Silva et al. (2009) não observaram, no final do estádio R_5, influência nos teores de macronutrientes

quando aplicaram 5 mL kg^{-1} de sementes do referido bioestimulante na cultura do feijão cultivar IAC Carioca.

Tabela 27. Teor de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	N		P		K		Ca	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^{1})							
Testemunha	26,2a	35,5a	6,0a	3,0a	38,9a	18,8a	10,5a	9,9a
TS	26,4a	36,3a	5,1b	3,2a	36,3a	19,0a	10,5a	10,7a
DMS	3,89	3,0	0,31	0,4	3,14	4,6	1,61	1,2
CV (%)	13,1	7,48	5,0	12,6	7,4	21,8	13,6	10,6
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	27,0	35,4	5,91	3,2	40,6	18,8	11,1	10,2
45	27,6	33,5	5,69	2,9	36,3	20.3	9,9	10,1
90	23,9	36,4	5,35	3,3	36,7	18,3	10,4	10,7
180	27,0	38,4	5,41	3,0	36,9	18,2	10,6	10,1
Efeito	ns	ns	$L^{(1)}$	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	25,2	9,9	7,1	11,6	19,4	13,4	12,6	13,7
Interação B x N	$1,08^{ns}$	$0,8^{ns}$	9,77*	$0,9^{ns}$	$0,653^{ns}$	$2,2^{ns}$	$3,82^{ns}$	$0,3^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente). $^{(1)}$ $y = 5,81 - 0,003x$ $R^2 = 0,69$*

Tabela 28. Teores de P no feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	P (g kg^{-1}) - Águas				
Testemunha	5,3a	6,1a	5,7a	6,4a	ns
TS	5,9a	5,2b	5,0a	4,4b	$y = 5,77 - 0,007x$ $R^2 = 0,90$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,5					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

Tabela 29. Teor de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	N		P		K		Ca	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^{1})							
Testemunha	34,5a	35,8a	5,8a	2,9a	35,7a	15,9a	11,6a	10,6a
TS	33,3a	36,0a	5,6a	2,8a	21,3b	14,8a	10,6a	11,2a
V4	34,6a	33,7a	6,1a	1,9b	32,0a	15,3a	11,3a	11,0a
TS+V4	33,6a	36,2a	5,7a	2,6a	32,8a	18,3a	11,7a	10,5a
DMS	4,8	2,1	0,5	0,4	7,9	4,8	2,0	2,0
CV (%)	12,9	5,5	7,7	15,3	23,5	26,9	16,3	16,9
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	33,5	32,5	6,1	2,5	31,9	16,3	11,7	10,8
45	33,6	35,6	5,6	2,6	32,2	16,3	10,6	10,5
90	34,3	34,5	5,7	2,6	28,4	16,2	11,0	11,2
180	34,5	39,1	5,8	2,7	29,4	15,7	12,1	10,7
Efeito	ns	L$^{(1)}$	Q$^{(2)}$	ns	ns	ns	Q$^{(3)}$	ns
CV (%)	10,8	9,5	7,4	16,9	22,7	20,4	16,3	12,9
Interação B x N	0,54^{ns}	2,4*	2,5*	1,5^{ns}	3,2*	2,3*	2,97*	2,5*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}y = 32,8 + 0,3x$ $R^2 = 0,85^{**}$; $^{(2)}y = 6,07 - 0,01x + 0,00005x^2$ $R^2 = 0,96^{*}$; $^{(3)}y = 11,56 - 0,02x + 0,0001x^2$ $R^2 = 0,88^{*}$.

Com relação às doses de N, na safra "das águas", somente os teores de P e o Ca, no estádio R_5, foram influenciados pelo nutriente (Tabela 29). Foi observado efeito quadrático com acréscimos máximos nos teores obtidos na dose estimada de 100 kg ha^{-1} de N, para os dois nutrientes, comportamento contrário, para o P, do que foi observado no estádio V_4. Na safra "da seca" somente o N foi influenciado pelas diferentes doses de N aplicadas e observa-se um aumento linear no teor desse nutriente. Perez (2010) observou que o teor de N na parte aérea do feijoeiro, por ocasião do florescimento, foi influenciado pelas doses de N em cobertura e a adição desse nutriente em cobertura, em dois anos agrícolas, promoveu acréscimo linear no teor desse elemento. Souza (2010) avaliando a influência da adubação nitrogenada, em dois anos agrícolas, observou que a aplicação de N incrementou de forma

linear o teor deste elemento no primeiro ano de experimento, porém, no segundo ano de estudo esta variável não foi influenciada pela aplicação de N.

Para o desdobramento da interação no estádio R_5 (Tabela 30), incrementos no teor de N foram observados nos tratamentos com o bioestimulante e, apesar de resultados não significativos, doses de N promoveram incrementos no teor desse nutriente na planta. Para o P, quando ocorreu aplicação do bioestimulante na semente (tratamento TS) menores teores desse nutriente foram encontrados, e decréscimos aconteceram à medida que se aumentou a dose de N na safra "das águas", onde na dose 0 kg ha^{-1} não houve diferença significativa entre os tratamentos, inclusive, todos os tratamentos foram superiores à testemunha, demonstrando que o decréscimo pode ter sido devido ao excesso de adubação nitrogenada ou pelo aproveitamento desse nutriente para a produção de fotossintatos.

Na safra "da seca" resultados semelhantes foram observados entre tratamentos com bioestimulante e a testemunha. Segundo Dhillon (1978), o P tem importante papel, tanto na produção de citocininas (que está presente na formulação do produto) e seu nível no xilema, quanto na sua associação com esse hormônio, e outras substâncias, na produção de nucleotídeos, por exemplo. Esse autor ainda sugere que, para determinadas culturas, é necessário a avaliação desse hormônio na planta, antes de realizar a adubação fosfatada, já que esse nutriente afeta o nível de citocinina (e vice-versa).

Mediante desdobramento, observa-se na Tabela 31, para o teor de K, que somente na dose de 180 kg ha^{-1} foram observados resultados superiores à testemunha na safra "das águas". Na safra "da seca" observaram-se maiores incrementos quando ocorreu tratamento de sementes associado à pulverização foliar no estádio V4 e utilizou-se a dose de 90 kg ha^{-1} de N.

Mediante desdobramento da interação BxN, verifica-se que o teor de Ca foi influenciado quando o bioestimulante foi aplicado tanto nas sementes quanto na pulverização foliar (Tabela 32). Resultados semelhantes foram encontrados para a dose 0 e 180 kg ha^{-1} de N, e nesse tratamento foram encontrados os maiores teores desse nutriente quando se aplicou a maior dose de N, apesar do decréscimo observado nas menores doses (45 e 90 kg ha^{-1}) na safra "das águas". Na safra "da seca", resultados superiores para o teor de Ca foram encontrados quando foi realizado tratamento de sementes (TS) e aplicou-se 90 kg $há^{1}$ de N.

Tabela 30. Teores de N e P na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			N (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	28,6b	36,3a	37,0a	41,3a	ns
TS	32,8ab	36,5a	34,8ab	40,0ab	ns
V4	34,4a	35,2a	30,8b	34,3b	ns
TS+V4	34,3ab	34,3a	35,3ab	41,0a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 5,8					
			P (g kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	5,8a	5,8ab	5,6a	5,9ab	ns
TS	6,2a	5,4ab	5,7a	5,2b	$y = 5,95 - 0,004x$ $R^2 = 0,643$*
V4	6,2a	6,2a	5,4a	6,4a	ns
TS+V4	6,2a	5,3b	5,6a	5,6ab	$y = 6,09 - 0,09x + 0,00006x^2$ $R^2 = 0,601$*
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,8					
			P (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	2,9a	2,9a	2,9a	2,8a	ns
TS	2,5ab	2,9a	3,1a	2,9a	ns
V4	1,9b	2,3a	1,7b	1,9b	ns
TS+V4	2,4ab	2,2a	2,9a	3,0a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,8					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Tabela 31. Teor de K na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			K (g kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	46,2a	39,0a	26,9a	30,9ab	$y = 47,37 -0,31x + 0,001x^2$ $R^2 = 0,92$*
TS	21,6c	22,0b	23,9a	17,8b	ns
V4	24,7bc	30,6ab	35,2a	37,5a	$y = 26,6+0,07x$ $R^2 = 0,87$*
TS+V4	35,0ab	37,3a	27,6a	31,4a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 13,17					
			K (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	18,4a	18,1a	13,7b	13,6a	ns
TS	15,9a	15,9a	12,6b	14,1a	ns
V4	15,5a	14,4a	17,3ab	14,8a	ns
TS+V4	15,3a	16,8a	21,1a	20,1a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 6,8					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Na Tabela 33, observa-se que o bioestimulante influenciou somente os teores de K e Ca, no estádio R_6, na safra "das águas". Para o K o tratamento que promoveu a menor média foi aquele em que foi realizada pulverização foliar no estádio R5 (tratamento R5), ao contrário do que foi observado no teor de Ca onde esse tratamento (tratamento R5) proporcionou o maior teor desse nutriente, enquanto que o TS+V4 promoveu a menor média. Já os tratamentos TS+V4, TS+R5 e V4+R5 proporcionaram os maiores teores de amônio. Abrantes (2008) não encontrou efeitos significativos nos teores dos nutrientes quando aplicou o mesmo biestimulante nas cultivares Carioca Precoce e IAC Apuã, nos estádios V_4 e R_5, assim como Oliveira; Pace; Rosolem (1998), que também não observaram efeitos significativos para os teores de N e S, já para P, K e Ca, os mesmos autores verificaram diferenças entre tratamentos quando foram aplicados 250 mL L^{-1} nas sementes e 750 mL ha^{-1} via pulverização foliar. Lana et al. (2009) não observaram efeito do bioestimulante na cultura do feijão cultivar Carioca quando aplicado via semente, via foliar e associações.

Tabela 32. Teor de Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Ca (g kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	11,5ab	11,3a	12,1a	11,7ab	ns
TS	10,0b	10,1a	12,0a	10,5b	ns
V4	11,4ab	10,3a	11,6ab	11,9ab	ns
TS+V4	13,8a	10,6a	8,3b	14,3a	$y = 14,01 -0,12x + 0,0007x^2$ $R^2 = 0,98$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 3,5					
			Ca (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	9,4a	10,2a	11,1ab	11,5a	ns
TS	11,9a	10,4a	13,0a	9,5a	ns
V4	10,7a	10,9a	10,8ab	11,5a	ns
TS+V4	11,3a	10,6a	9,8b	10,3a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) =2,9					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

As doses de N aplicadas em cobertura influenciaram somente os teores de N na safra "das águas" e o teor de Ca na safra "da seca" (Tabela 33). Alvarez et al. (2005) também verificaram que os teores de N na parte aérea do feijão cultivar Pérola, não foram influenciados com a aplicação da adubação nitrogenada em cobertura em sistema plantio direto. Resultados contrários foram encontrados por Soratto et al. (2004), que obtiveram efeito linear da adubação nitrogenada de cobertura sobre o teor de N da folha do feijoeiro. Kaneko et al. (2010) observaram efeito quadrático das doses de N aplicadas sobre o teor de N da folha do feijoeiro. Carvalho et al. (2003) observaram que à medida que se aumentou a dose de N em cobertura houve incremento no teor de N nas folhas do feijoeiro, sendo o teor máximo alcançado na dose de 108 kg ha^{-1}, o que também foi verificado por Bassan et al. (1999).

Com relação às doses de N aplicadas no estádio R_6, somente o teor de Ca foi influenciado e o valor máximo foi proporcionado pela dose calculada de 150 kg ha^{-1} de N (Tabela 33). Perez (2010) também observou efeito no teor de Ca nas folhas do feijoeiro,

com os dados ajustando-se a uma equação quadrática, até a dose de 60 kg ha^{-1} de N e queda na maior dose, porém, ao contrário do presente estudo, verificou incremento no teor de K, de forma linear, à medida que se aumentaram as doses de N em cobertura. Crusciol et al. (2007) também verificaram aumento no teor de K nas folhas do feijoeiro com o aumento da dose de N, na forma de nitrato.

Tabela 33. Teor de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	N		P		K		Ca	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^{-1})							
Testemunha	35,1a	33,6a	5,6a	3,1a	37,5a	15,1a	13,2ab	11,4a
TS	32,5a	35,8a	5,0a	2,9a	36,7a	16,9a	12,0ab	11,6a
V4	32,0a	34,8a	5,0a	3,0a	34,1ab	16,4a	12,7ab	11,0a
R5	30,8a	35,1a	5,2a	3,1a	32,2b	15,4a	13,5a	11,2a
TS+V4	31,1a	34,3a	4,7a	3,6a	37,5a	18,4a	11,2b	10,7a
TS+R5	30,9a	33,6a	4,7a	4,5a	33,7ab	17,8a	11,8ab	10,7a
V4+R5	30,7a	34,4a	4,6a	3,6a	34,8ab	14,5a	11,7ab	11,7a
TS+V4+R5	30,3a	31,9a	4,6a	2,1a	35,2ab	15,2a	11,7ab	11,3a
DMS	5,02	4,2	1,07	0,6	4,28	4,4	2,32	1,6
CV (%)	13,4	10,5	18,3	17,2	10,3	22,8	16,0	12,3
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	32,3	32,5	5,2	3,2	35,1	16,2	11,8	10,8
45	31,3	33,5	4,8	3,3	35,6	16,6	11,7	10,7
90	32,6	34,4	5,1	3,1	36,1	15,7	13,4	11,8
180	30,4	36,3	4,8	3,2	34,1	16,5	12,1	11,5
Efeito	ns	$L^{(1)}$	ns	ns	ns	ns	$Q^{(2)}$	ns
CV (%)	14,6	9,2	17,5	12,0	14,0	18,1	14,1	13,1
Interação B x N	$0,9^{ns}$	1,6*	2,1*	7,6**	2,2*	1,2*	4,0*	$0,8^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}$ $y = 32,5 + 0,02x$ $R^2 = 0,72$*; $^{(2)}$ $y = 11,5 + 0,03x - 0,0001x^2$ $R^2 = 0,51$*.

Mediante o desdobramento da interação (Tabela 34), verifica-se que o teor de N foi influenciado somente na safra “da seca” e nos tratamentos V4+R5 e TS+V4+R5 ocorreram decréscimos quando foi aplicado a maior dose de N em cobertura. Verifica-se que o teor de P foi maior no tratamento R5 na dose de 0 kg ha^{-1} de N na safra “das águas”, e também se observa um declínio mais pronunciado em relação aos outros tratamentos quando ocorre aumento da dose de N até 180 kg ha^{-1}.

Na safra “da seca”, em todas as doses de N aplicadas em cobertura, no tratamento TS+R5 observaram-se os maiores teores (Tabela 34). Resultados não significativos para a quantidade acumulada de N foram encontrados para as diferentes doses de N aplicadas em cobertura na safra “das águas” (Tabela 33). Já na safra “da seca” os menores teores observados foram encontrados no tratamento com aplicação do bioestimulante em TS+V4+R5 e a maior dose de N em cobertura (Tabela 34). Stone; Moreira (2001) verificaram incrementos na quantidade de N acumulada na parte aérea do feijoeiro, tanto com resposta linear como quadrática, à medida que incrementava a dose de N aplicada.

O tratamento R5 proporcionou acréscimos no teor de K à medida que aumentou a dose de N na safra “das águas”, mas os tratamentos V4 e TS+V4 promoveram reduções, o que foi refletido na quantidade acumulada desse nutriente à medida que ocorreu acréscimo na dose de N. Na safra “da seca” os maiores teores observados foram encontrados no tratamento TS+V4 (Tabela 35). Observa-se que em todos os estádios avaliados para o K, na safra “das águas”, acréscimos significativos foram promovidos quando foi realizada pulverização foliar ao invés de tratamento de sementes, o mesmo ocorreu com Oliveira et al. (1998) e segundo Salisbury; Ross (1992) isso pode ser devido à pouca mobilidade da citocinina que promove translocação de aminoácidos, íons e outras substâncias, diretamente para onde foram aplicadas, nesse caso, as folhas.

Na Tabela 36 observa-se que, no estádio R_6, os tratamentos com aplicação do bioestimulante em V4 e R5 proporcionaram menores teores de Ca quando se aplicou a maior dose de N (180 kg ha^{-1}), porém, apresentaram a maior média quando se aplicou 90 kg ha^{-1} de N na safra “das águas”.

Tabela 34. Teor de N e P na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			N (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	32,7a	35,1a	31,4a	35,3ab	ns
TS	32,4a	35,4a	36,4a	38,8a	$y = 33,1+ 0,03x \quad R^2 = 0,94^*$
V4	30,9a	35,3a	37,2a	35,8ab	$y = 31,0+0,1x-0005x^2 \quad R^2 = 0,99^*$
R5	31,6a	33,9a	37,9a	37,0a	$y =31,2+0,09x-0,0004x^2 \quad R^2 = 0,92^*$
TS+V4	30,5a	35,1a	32,6a	38,8a	ns
TS+R5	31,4a	32,3a	34,3a	36,3ab	$y =31,4+0,03x \quad R^2 = 0,98^*$
V4+R5	30,2a	36,0a	36,9a	34,4ab	$y =3,05+0,1x-0,0006x^2 \quad R^2 = 0,96^*$
TS+V4+R5	31,4a	32,3a	34,4a	29,4b	$y =31,0+0,07x-0,0004x^2 \quad R^2 = 0,88^*$
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 7,1					
			P (g kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	5,5ab	5,8a	5,8a	5,4a	ns
TS	5,4ab	4,5a	5,3a	4,8a	ns
V4	4,9ab	5,1a	5,2a	4,8a	ns
R5	6,5a	4,9a	4,9a	4,7a	$y = 6,35 -0,03x + 0,0001x^2 \quad R^2=0,89^*$
TS+V4	4,9ab	4,8a	5,0a	4,1a	ns
TS+R5	4,9ab	4,4a	4,6a	4,8a	ns
V4+R5	4,4b	4,4a	4,7a	5,0a	ns
TS+V4+R5	4,8ab	4,3a	5,0a	4,6a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,9					
			P (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	3,0bc	3,3c	2,8bc	3,3bc	ns
TS	2,6bc	3,0c	3,2b	3,0bc	ns
V4	3,0bc	2,9c	3,1b	3,0bc	ns
R5	3,1bc	2,8cd	3,2b	3,4b	ns
TS+V4	3,5ab	3,6bc	3,4b	3,7ab	ns
TS+R5	4,3a	4,6a	4,6a	4,6a	ns
V4+R5	4,4a	4,5ab	2,7bc	1,8d	$y = 4,6 - 0,02x \quad R^2=0,89^{**}$
TS+V4+R5	2,1c	1,8d	2,0c	2,4cd	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,9					

Médias seguidas da mesma letra na coluna em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Tabela 35. Teor de K na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		K (g kg^{-1}) – Águas			
Testemunha	36,4a	38,1a	37,3a	38,1a	ns
TS	38,0a	38,7a	37,4a	32,8a	ns
V4	37,5a	34,9a	33,1a	30,8a	$y = 36,9 - 0,04x \quad R^2 = 0,96^*$
R5	23,1b	35,4a	35,2a	35,3a	$y = 24,1 + 0,23x - 0,0009x^2 \quad R^2 = 0,88^*$
TS+V4	36,4a	35,8a	40,6a	37,2a	ns
TS+R5	40,4a	31,5a	32,4a	30,6a	$y = 37,2 - 0,04x \quad R^2 = 0,56^*$
V4+R5	32,6ab	39,5a	34,6a	32,5a	ns
TS+V4+R5	36,1a	30,8a	37,9a	35,9a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 10,17					
		K (g kg^{-1}) - Secas			
Testemunha	14,6a	16,7a	11,9b	17,2a	ns
TS	15,5a	17,6a	16,1ab	18,5a	ns
V4	15,6a	17,4a	18,6ab	14,2a	ns
R5	16,4a	14,6a	16,5ab	14,3a	ns
TS+V4	17,3a	18,6a	19,7a	18,1a	ns
TS+R5	19,4a	17,5a	15,5ab	18,7a	ns
V4+R5	15,8a	14,8a	12,3b	15,2a	ns
TS+V4+R5	14,9a	14,4a	15,3ab	15,3a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 6,9					

Médias seguidas da mesma letra na coluna em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Tabela 36. Teor de Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Ca (g kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	12,8a	12,2a	14,4ab	13,6a	ns
TS	13,1a	11,2a	12,6b	11,0a	ns
V4	11,7a	12,2a	14,3ab	12,6a	ns
R5	11,4a	13,2a	17,1a	12,5a	$y=10,9+0,10x-0,0005x^2$ $R^2=0,83$**
TS+V4	10,8a	9,5a	12,5b	12,1a	ns
TS+R5	11,7a	12,5a	12,3b	10,9a	ns
V4+R5	11,4a	11,3a	11,6b	12,7a	ns
TS+V4+R5	11,3a	15,5a	12,3b	11,8a	ns

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 3,92

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Observa-se que no estádio V_4 a aplicação do bioestimulante influenciou a quantidade acumulada de N, K e Ca na safra "das águas", porém nenhum efeito foi observado na quantidade acumulada de N, P, K e Ca na safra "da seca" (Tabela 37). As doses de N influenciaram somente a quantidade acumulada de K na safra "das águas", ao contrário de Maia (2011) que observou influência das diferentes doses e manejos de N na quantidade acumulada da parte aérea desse nutriente, Soratto et al. (2001; 2006) também observaram maior eficiência do N quando este foi aplicado nas fases iniciais da cultura do feijão comum, e Stone; Moreira (2001) verificaram incrementos na quantidade de N acumulada na parte aérea, tanto com resposta linear como quadrática, quando foi aplicado esse nutriente.

Tabela 37. Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K e Ca) na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	N		P		K		Ca	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(kg ha^{-1})							
Testemunha	7,1b	19,5a	1,6a	1,7a	10,4b	10,0a	2,8b	5,5a
TS	8,7a	19,0a	1,6a	1,6a	11,8a	10,0a	3,4a	5,6a
DMS	0,6	2,5	0,1	0,1	12,20	3,4	0,4	0,9
CV (%)	6,3	11,5	10,8	3,4	1,4	30,3	12,2	14,3
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	6,3	17,2	1,4	1,5	9,8	8,6	2,7	4,5
45	8,8	19,3	1,8	1,6	11,4	11,6	3,1	5,8
90	7,5	19,3	1,6	1,7	11,2	9,8	3,2	5,7
180	8,8	21,4	1,7	1,6	11,9	10,1	3,3	5,7
Efeito	ns	ns	ns	ns	L$^{(1)}$	ns	ns	ns
CV (%)	16,9	26,6	19,9	28,5	12,8	26,6	22,6	30,1
Interação B x N	3,1*	0,2^{ns}	3,1*	0,1^{ns}	10,7*	1,0^{ns}	3,1*	0,2^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

$^{(1)}$ $y = 10,3+0,01x$ $R^2 = 0,73*$

Mediante desdobramento da interação, em todas as doses de N aplicadas um incremento na quantidade acumulada de Ca foi promovido quando as sementes foram tratadas com o bioestimulante; a maior média encontrada foi na dose de 90 kg ha^{-1} de N, porém médias semelhantes foram observadas desde a menor até a maior dose de N aplicada (Tabela 38).

Tabela 38. Quantidade acumulada de N, P, K e Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		N (kg ha^{-1}) – Águas			
Testemunha	6,1a	8,3a	5,9b	7,5a	ns
TS	6,5a	9,2a	9,1a	10,1a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,71					
		P (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	1,1a	1,6b	1,4a	1,6a	ns
TS	1,6a	2,0a	1,8a	1,7a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,43					
		K (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	8,4b	9,7b	9,3b	10,9a	ns
TS	11,3a	13,1a	13,2a	12,9a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 2,01					
		Ca (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	2,2b	2,9a	2,5b	3,3a	ns
TS	3,3a	3,3a	3,9a	3,5a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,94					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

A aplicação do bioestimulante influenciou somente a quantidade acumulada de K no estádio R_5, na safra "das águas" (Tabela 39). A menor média foi promovida pelo tratamento TS, porém, apesar de não apresentar significância, a quantidade acumulada de todos os outros nutrientes quando as sementes foram tratadas com o bioestimulante (tratamento TS) foram inferiores, ou muito semelhantes, à testemunha.

Tabela 39. Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K e Ca) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

	N		P		K		Ca	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(kg ha^{1})							
Testemunha	24,5a	38,3a	4,1a	3,0a	24,9a	16,3a	8,4a	11,2a
TS	23,7a	36,2a	3,9a	2,9a	14,8b	14,6a	7,6a	11,3a
V4	25,2a	36,0a	4,4a	2,0a	23,6a	15,9a	8,2a	11,8a
TS+V4	22,9a	31,0a	3,9a	2,2a	22,8a	15,4a	8,2a	9,2a
DMS	4,7	14,0	1,1	1,0	7,4	7,9	1,4	4,9
CV (%)	17,6	35,9	24,6	37,1	30,9	46,3	16,2	41,0
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	16,6	30,9	3,0	2,2	15,3	15,0	5,7	10,3
45	21,8	35,7	4,2	2,6	23,8	16,4	7,8	10,5
90	24,8	33,4	4,1	2,6	21,4	14,7	8,2	11,0
180	30,7	41,5	5,0	2,8	25,5	16,2	10,6	11,7
Efeito	L$^{(1)}$	L$^{(2)}$	L$^{(3)}$	ns	L$^{(4)}$	ns	L$^{(5)}$	ns
CV (%)	22,9	24,1	25,1	28,5	24,9	26,0	25,6	30,2
Interação B x N	2,3*	3,5*	1,7^{ns}	2,0*	4,9*	2,3^{ns}	4,1*	2,7^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}y = 18,9 + 0,06x$ $R^2=0,84$**; $^{(2)}y = 31,2 + 0,05x$ $R^2=0,80$*; $^{(3)}y = 3,3 + 0,01x$ $R^2=0,86$**; $^{(4)}y = 17,9 + 0,04x$ $R^2=0,63$*; $^{(5)}y = 6,1 + 0,02x$ $R^2=0,96$**.

Em relação à aplicação de doses de N, todos os nutrientes tiveram aumento linear nas suas quantidades acumuladas à medida que se aumentou a dose de N na safra "das águas", já na safra "da seca", somente o N foi influenciado pela adubação nitrogenada, tendo aumento linear (Tabela 39). Soratto; Crusciol (2008) utilizando a mesma cultivar verificaram teores de K abaixo da faixa considerada adequada para o feijoeiro quando aplicaram doses crescentes de N. Kikuti et al. (2006) observaram, em feijoeiro, que os pontos de máximo teor para N, P e Mg foram alcançados com doses de N maiores que as empregadas no estudo (210 kg ha^{-1} de N) à medida que se elevou a dose em cobertura.

Mediante desdobramento da interação (Tabela 40), observa-se que ocorreram acréscimos na quantidade acumulada de N no estádio R_5 à medida que se aumentou a dose de N. Na safra "da seca" as maiores médias foram observadas no tratamento testemunha, exceto quando não foi aplicado N em cobertura.

Tabela 40. Quantidade acumulada de N na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		N (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	15,6a	30,2a	22,7a	29,4a	ns
TS	18,1a	22,5ab	25,1a	28,9a	$y = 19,1+0,06x$ $R^2=0,96$*
V4	15,9a	27,1ab	31,4a	26,3a	$y = 16,0+0,29x-0,001x^2$ $R^2=0,99$*
TS+V4	16,6a	18,6b	22,1a	34,3a	$y = 14,9+0,1x$ $R^2=0,96$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 9,9					
		N (kg ha^{-1}) - Seca			
Testemunha	18,3b	45,9a	39,7a	49,1a	ns
TS	31,0ab	34,1a	37,4a	42,4a	ns
V4	40,7a	34,5a	26,2a	42,7a	ns
TS+V4	33,5ab	28,5a	30,1a	32,0a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 18,6					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Para o P, somente quando foram utilizadas as doses de 45 e 90 kg ha^{-1} de N observou-se efeitos significativos da aplicação do bioestimulante, com os menores valores obtidos com a aplicação em V4 e TS+V4 (Tabela 41). Na safra "das águas" o tratamentos com aplicação do bioestimulante promoveram as maiores médias na quantidade acumulada de K, exceto no tratamento Testemunha.

Tabela 41. Quantidade acumulada de P, K e Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		P (kg ha^{-1}) - Seca			
Testemunha	1,9a	3,7a	3,1a	3,4a	ns
TS	2,4a	2,7ab	3,4a	3,1a	ns
V4	2,2a	2,2ab	1,5b	2,3a	ns
TS+V4	2,4a	1,8b	2,4ab	2,3a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,5					
		K (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	20,5a	33,5a	18,3b	27,3a	ns
TS	12,2a	15,4b	17,4b	14,2b	ns
V4	11,5a	22,8ab	32,5a	27,4a	$y = 10,9+0,4x-0,001x^2$ $R^2=0,98$*
TS+V4	17,1a	23,5ab	17,6b	32,9a	$y = 16,5x+0,07x^2$ $R^2=0,67$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 10,8					
		Ca (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	5,2a	9,6a	8,3ab	10,5b	ns
TS	5,7a	7,0a	8,5ab	8,9b	$y =6,1+0,02x$ $R^2=0,85$*
V4	5,3a	8,1a	10,8a	8,7b	$y =5,1+0,09x-0,0004x^2$ $R^2=0,97$*
TS+V4	6,7a	6,5a	5,3b	14,2a	$y =7,1-0,06x+0,0006x^2$ $R^2=0,96$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 3,6					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Resultados significativos para a quantidade acumulada de Ca foram encontrados somente nas doses de 90 e 180 kg ha^{-1} de N e pode-se observar o comportamento oposto entre os tratamentos V4 e TS+V4 na safra "das águas" (Tabela 41). O primeiro proporcionou incrementos, mas nas doses superiores de N se observou um decréscimo na quantidade acumulada. Já para o segundo, na maior dose, obteve-se um aumento na

quantidade acumulada de Ca. Variações nos resultados comprovam a interação entre o Ca e os hormônios vegetais. Sabe-se que diferentes níveis de auxina, promovem mudanças nos teores de Ca nas células. Essa relação auxina-Ca ainda não foi bem esclarecida, apesar de já ter sido comprovada por Clealand (1960), Dela Fuente; Leopold (1973), Clealand; Rayle (1977) e Yang; Poovaiah (2000b). Ainda não se sabe se a auxina desloca o Ca da parede celular para facilitar a entrada de água e elongação, se a auxina ultrapassa membranas por uma mudança na conformação pelo íon Ca, ou ainda se essa interação auxina-Ca é mediada pela calmodulina; sabe-se que mudança nos níveis de um, altera os níveis do outro. Além da auxina, a giberelina também influencia no teor e quantidade do Ca na célula, segundo Yang et al. (2003), tratamentos com ácido giberélico poderiam modificar a concentração de Ca citossólico ou ainda sinalizar partições mediadas por esse nutriente.

No estádio R_6, resultados significativos foram observados para a quantidade acumulada de Ca (Tabela 42). As quantidades acumuladas alcançaram os maiores incrementos quando o bioestimulante foi aplicado via foliar no estádio R5 (tratamento R5) e as menores médias foram promovidas pelo tratamento TS+V4 na safra “das águas”. Na safra “da seca”, somente o teor de P foi influenciado pelo uso do bioestimulante e a maior valor observado foi obtido com o tratamento de sementes associado a pulverização no estádio R5 (tratamento TS+R5).

Houve efeito linear da aplicação de N em cobertura na quantidade acumulada de N, P, K e Ca no estádio R_6 nas duas safras (Tabela 42).

Tabela 42. Quantidade acumulada de nutrientes (N, P, K e Ca), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	N		P		K		Ca	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(kg ha^{-1})							
Testemunha	29,7a	61,4a	4,8a	5,7b	31,7a	27,9a	11,2ab	20,6a
TS	31,5a	60,4a	4,8a	5,0b	35,7a	28,7a	11,6ab	19,8a
V4	32,9a	60,9a	4,8a	5,4b	33,5a	29,2a	12,6ab	20,0a
R5	31,6a	59,3a	5,3a	5,0b	33,7a	26,4a	13,9a	18,8a
TS+V4	28,3a	61,6a	4,3a	6,5b	34,5a	32,7a	10,3b	19,7a
TS+R5	32,4a	71,5a	4,8a	9,6a	34,7a	38,0a	12,6ab	22,7a
V4+R5	32,4a	59,6a	4,9a	5,6b	36,7a	24,4a	12,3ab	20,5a
TS+V4+R5	32,7a	55,6a	5,0a	3,7b	38,6a	27,3a	12,8ab	20,2a
DMS	5,6	24,9	1,2	2,9	6,9	18,9	2,9	10,1
CV (%)	15,1	34,3	20,2	42,0	16,8	45,6	20,5	42,0
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	24,0	48,2	3,8	5,0	26,0	24,8	8,7	16,6
45	32,3	60,5	4,9	5,9	36,7	29,2	12,0	19,0
90	33,8	64,7	5,2	5,8	37,3	29,2	13,9	22,1
180	35,7	71,7	5,4	6,7	39,5	34,1	14,0	23,5
Efeito	L$^{(1)}$	L$^{(2)}$	L$^{(3)}$	L$^{(4)}$	L$^{(5)}$	L$^{(6)}$	L$^{(7)}$	L$^{(8)}$
CV (%)	20,2	29,2	22,2	34,4	18,4	36,7	16,8	33,5
Interação B x N	1,0*	1,4*	0,9^{ns}	1,8*	1,8*	1,0*	1,9*	1,1^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}$ y = 26,9+0,06x R^2=0,73**; $^{(2)}$ y = 51,7+0,1x R^2=0,89**; $^{(3)}$ y = 4,2+0,008x R^2=0,74**; $^{(4)}$ y = 5,2+0,008x R^2=0,87*; $^{(5)}$y = 29,8+0,06x R^2=0,66**; $^{(6)}$ y = 25,6+0,05x R^2=0,92*; $^{(7)}$y = 10,0+0,03x R^2=0,71**; $^{(8)}$y = 17,3+0,04x R^2=0,90**.

As doses de N promoveram acréscimos na quantidade acumulada de N no estádio R_6 à medida que se aumentou a dose aplicada em cobertura, e a maior média encontrada foi na dose de 90 kg ha^{-1} de N associada à pulverização foliar com o bioestimulante no estádio V4 (tratamento V4). Na safra "da seca", acréscimos foram

observados à medida que se aumentou a dose de N e o maior valor encontrado foi no tratamento TS+R5 quando foram aplicados em cobertura 180 kg ha^{-1} de N (Tabela 43).

Tabela 43. Quantidade acumulada de N na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			N (kg ha^{-1}) - Águas		
Testemunha	21,1a	35,7a	30,2ab	31,8a	ns
TS	25,9a	33,3a	33,1ab	33,8a	ns
V4	23,4a	33,6a	40,1a	34,6a	$y = 23,2+0,3x-0,001x^2$ $R^2=0,99$*
R5	23,4a	32,0a	32,7ab	38,3a	ns
TS+V4	24,1a	27,0a	25,3b	36,7a	ns
TS+R5	22,8a	33,9a	33,3ab	39,7a	ns
V4+R5	23,3a	33,6a	36,9ab	35,6a	ns
TS+V4+R5	27,9a	28,9a	38,4ab	35,4a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 13,1					
			N (kg ha^{-1}) – Seca		
Testemunha	45,6a	75,6a	49,7a	74,7ab	ns
TS	60,8a	57,2a	53,1a	70,6ab	ns
V4	51,3a	52,5a	60,8a	79,2ab	$y=48,1+0,2x$ $R^2=0,95$*
R5	42,6a	60,5a	69,7a	64,2ab	ns
TS+V4	48,5a	68,5a	65,2a	64,2ab	ns
TS+R5	46,9a	65,9a	71,0a	102,0a	$y=48,3+0,3x$ $R^2=0,98$**
V4+R5	45,7a	54,1a	81,1a	57,6b	$y=42,1+0,6x-0,003x^2$ $R^2=0,76$*
TS+V4+R5	44,3a	49,5a	67,1a	61,4ab	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 41,1					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Os maiores teores de P, na safra "da seca" foram encontrados no tratamento com aplicação do bioestimulante em TS+R5, onde foi observado incremento mais

significativo à medida em que aumentaram as doses de N (Tabela 44). Os tratamentos com bioestimulante em TS+R5 e R5 proporcionaram aumento na quantidade acumulada de Ca quando foram aplicados 45 e 90 kg ha^{-1}de N, respectivamente, na safra "das águas".

Tabela 44. Quantidade acumulada de P e Ca na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			P (kg ha^{-1}) – Seca		
Testemunha	4,3a	7,1ab	4,4b	7,0b	ns
TS	5,0a	4,9b	4,7b	5,5b	ns
V4	5,0a	4,5b	5,1ab	7,0b	ns
R5	4,2a	4,7b	5,9ab	6,2b	ns
TS+V4	5,6a	7,2ab	6,8ab	6,3b	ns
TS+R5	6,4a	9,6a	9,5a	13,1a	$y=7,0+0,03x$ $R^2=0,92^{**}$
V4+R5	6,7a	6,7ab	6,0ab	3,2b	$y=7,3+0,02x$ $R^2=0,88^{*}$
TS+V4+R5	3,0a	2,8b	4,0b	5,1b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 4,7					
			Ca (kg ha^{-1}) – Águas		
Testemunha	8,1a	12,1ab	11,7bc	12,8a	ns
TS	9,9a	11,1ab	12,3bc	13,2a	$y=10,2+0,02x$ $R^2=0,94^{*}$
V4	7,9a	13,0ab	16,1ab	13,3a	ns
R5	8,7a	12,9ab	18,8a	15,5a	$y=8,1+0,17x-0,0007x^2$ $R^2=0,93^{**}$
TS+V4	7,6a	8,6b	10,6c	14,5a	$y=7,2+0,04x$ $R^2=0,98^{**}$
TS+R5	8,6a	13,7a	14,1abc	13,7a	ns
V4+R5	8,8a	12,6ab	13,6bc	14,0a	ns
TS+V4+R5	10,2a	12,1ab	14,2abc	14,7a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 4,7					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Na safra "das águas", o tratamento com bioestimulante via foliar em R5, promoveu acréscimos no teor K à medida que aumentou a dose de N, o que foi refletido

na quantidade acumulada desse nutriente à medida que houve acréscimos na dosagem de N (Tabela 45). Na safra “da seca”, comportamento semelhante ao P foi observado para o K, em relação ao tratamento com o bioestimulante e dose de N. Incrementos significativos foram alcançados no tratamento com aplicação do bioestimulante em TS+R5 quando foram aplicados 180 kg ha^{-1} de N.

Interações entre P e K costumam apresentar efeito sinérgico. Já entre N e K os teores são inversamente relacionados apresentando um efeito inibitório (WYLLYAM do VALE, 2008), apesar de que para Silva (1989) na presença de N há uma maior absorção do K, e vice-versa, mas sabe-se que o N desempenha funções predominantes sobre às do K. Estudos indicam que a aplicação de altas doses de N resultam em altos teores de N na folha (CARVALHO; MATTOS JUNIOR; SOUZA, 2000), confirmando o efeito positivo da aplicação de N no presente trabalho na safra “da seca”.

Constatou-se também que o aumento das doses de N aplicadas em cobertura promoveu diminuição no teor de P (Tabelas 27, 28 e 29), o que pode ser explicado por uma possível competição entre os ânions nitrato e fosfato. E apesar do efeito inibitório entre N e K, a aplicação do bioestimulante incrementou o teor de K a partir da dose de 45 kg ha^{-1} tanto na safra “das águas” quanto “da seca” como se observa nas Tabelas 31 e 35, confirmando os resultados de Silva (1989).

Apesar dos teores de K terem sido incrementados, diferentes formas e épocas de aplicação do bioestimulante parece ter ajudado absorção do Ca e evitado a inibição competitiva entre esses íons na safra “das águas”, já que foi observado um incremento no teor e quantidade acumulada deste último (Tabelas 32, 36, 38, 41, 42 e 44).

Tabela 45. Quantidade acumulada de K na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	K (kg ha^{-1}) – Águas				
Testemunha	22,9ab	38,0a	30,4a	35,4a	ns
TS	29,0ab	38,1a	36,5a	39,2a	ns
V4	25,2ab	38,3a	37,2a	33,3a	ns
R5	17,6b	34,9a	38,8a	43,4a	y=23,6+0,13x R^2=0,76**
TS+V4	25,8ab	32,9a	34,6a	44,8a	y=26,6+0,1x R^2=0,97**
TS+R5	29,7ab	34,7a	35,7a	38,5a	ns
V4+R5	25,2ab	44,4a	41,1a	36,1a	ns
TS+V4+R5	32,6a	32,3a	44,1a	45,3a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 13,8					
	K (kg ha^{-1}) – Seca				
Testemunha	21,0a	34,6a	18,9a	37,2ab	ns
TS	28,9a	28,3a	23,7a	33,8ab	ns
V4	25,9a	25,2a	30,4a	35,4ab	ns
R5	22,9a	25,5a	31,5a	25,6b	ns
TS+V4	27,5a	35,3a	37,5a	30,6ab	ns
TS+R5	28,6a	38,6a	31,7a	53,2a	y=28,3+0,1x R^2=0,75*
V4+R5	22,9a	22,4a	27,4a	24,9b	ns
TS+V4+R5	20,5a	23,9a	32,4a	32,2ab	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 25,2					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

O teor de Mg na parte aéra do feijoeiro no estádio V_4 não foi influenciado pela aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes, em nenhuma das safras (Tabela 46). Na safra “das águas”, o tratamento de sementes com bioestimulante reduziu o teor de S. Silva et al. (2010) não verificaram efeitos do bioestimulante nos teores de Mg e S quando aplicaram 5 mL kg^{-1} de sementes associado a diferentes doses de P.

Tabela 46. Teor de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$, na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Mg		S		$N\text{-}NH_4^+$		$N\text{-}NO_3^-$	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^{-1})							
Testemunha	7,2a	3,4a	3,0a	2,8a	0,3a	0,2a	0,6a	0,3a
TS	6,4a	3,5a	2,1b	2,7a	0,3a	0,2a	0,5a	0,3a
DMS	0,9	0,6	0,6	0,3	0,1	0,6	0,3	0,1
CV (%)	12,4	16,7	22,1	9,3	23,7	21,7	41,9	33,6
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	7,4	3,3	3,2	2,8	0,3	0,2	0,6	0,2
45	6,4	3,3	2,8	2,9	0,3	0,2	0,6	0,3
90	6,9	3,6	2,3	2,7	0,3	0,3	0,7	0,4
180	6,4	3,6	1,9	2,7	0,3	0,2	0,5	0,4
Efeito	ns	ns	L$^{(1)}$	ns	ns	Q$^{(2)}$	ns	L$^{(3)}$
CV (%)	12,8	18,4	17,0	9,3	19,4	29,7	53,9	48,9
Interação B x N	0,4^{ns}	0,3^{ns}	9,9*	1,4^{ns}	0,4^{ns}	0,7^{ns}	1,3^{ns}	1,7^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente). $^{(1)}$ $y = 3,12 - 0,007x$ $R^2 = 0,97^{**}$; $^{(2)}$ $y = 176,4 + 1,7x - 0,007x^2$ $R^2 = 0,98^{*}$; $^{(3)}$ $y = 263,3 + 1,0x$ $R^2 = 0,84^{*}$.

A aplicação de N em cobertura promoveu decréscimo linear no teor de S na parte aérea do feijoeiro (Tabela 46). Andreotti et al. (2005), avaliando diferentes fontes e modos de aplicação do N, no estádio V_4, observaram que o feijão cv. IAPAR 31 foi influenciado por esse nutriente, porém, assim como no presente trabalho, diferenças não significativas foram encontradas para o teor de Mg. Perez (2010) observou que as doses de N influenciaram os teores de Mg e S somente no segundo ano do experimento com feijão cv. Pérola, ele explica que variações acima e abaixo do considerado adequado para essa cultura varia de acordo com os teores encontrados no solo e fontes de nutrientes utilizadas.

Mediante desdobramento da interação BxN, observa-se que somente o S foi influenciado significativamente, e tanto a aplicação do bioestimulante quanto as diferentes doses de N contribuíram para o decréscimo do teor desse nutriente na safra "das águas" (Tabela 47). Na safra "da seca", a interação entre as diferentes formas e épocas de

aplicação do bioestimulante e doses de N não influenciaram os teores de Mg, S, $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$.

Tabela 47. Teores de S no feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	S (g kg^{-1}) - Águas				
Testemunha	3,3a	3,1a	2,5a	3,0a	ns
TS	3,1a	2,4b	2,1b	0,7b	$y = 3,08 - 0,013x$ $R^2 = 0,98$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,71					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

Apesar de aumentar a atividade da enzima redutase do nitrato (Tabelas 19 e 20), aplicação do bioestimulante via tratamento de semente (TS) não interferiu nos teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijeoiro no estádio V4 (Tabela 46). Por outro lado, a aplicação de N em cobertura aumentou os teores de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$, porém, apenas na safra de seca.

Aplicação do bioestimulante não influenciou os teores de Mg, $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ no estádio R_5, tanto na safra "das águas" quanto "da seca" (Tabela 48). Para o S, comportamento semelhante ao estádio V_4 foi observado, ou seja, esse nutriente teve seu teor e quantidade acumulada reduzidos quando foi realizada a aplicação do bioestimulante nas sementes (tratamento TS) na safra "das águas". Decréscimos também foram observados na safra "da seca" quando foi realizada pulverização foliar com o bioestimulante no estádio V4.

Para as diferentes doses de N, somente na safra "da seca" foi observado comportamento quadrático para o teor de Mg à medida que se aumentou a dose de N aplicada em cobertura. Kikuti et al. (2005) também encontraram acréscimos no teor desse macronutriente no feijoeiro, logo após o estádio R_5, quando aplicaram doses crescentes de N, porém, esses foram lineares. Crusciol et al. (2007) após a aplicação de uréia, como fonte de N, observaram que ocorreu incremento linear no teor de $N\text{-}NH_4^+$ e acréscimos nos teores de Mg, porém as diferentes doses de N não influenciaram nos teores de S e $N\text{-}NO_3^-$.

Tabela 48. Teor de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "das secas".

Tratamento	Mg		S		$N\text{-}NH_4^+$		$N\text{-}NO_3^-$	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^{-1})							
Testemunha	8,2a	4,0a	1,3ab	2,4a	0,4a	0,3a	1,5a	0,2a
TS	7,4a	4,2a	1,0b	2,6a	0,5a	0,3a	1,4a	0,3a
V4	8,0a	4,0a	1,4a	2,2b	0,6a	0,3a	1,4a	0,5a
TS+V4	6,9a	3,9a	1,3ab	1,8c	0,6a	0,3a	1,5a	0,4a
DMS	2,03	1,2	0,37	0,2	0,26	0,09	1,79	0,3
CV (%)	24,2	27,3	27,5	8,3	45,8	30,3	111,8	81,8
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	7,8	3,6	1,3	2,4	0,55	0,3	1,70	0,3
45	7,4	3,9	1,2	2,2	0,53	0,3	1,65	0,3
90	7,3	4,3	1,2	2,2	0,50	0,3	1,54	0,5
180	7,9	4,2	1,2	2,3	0,48	0,3	1,43	0,4
Efeito	ns	Q$^{(1)}$	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	21,6	14,3	27,7	21,1	36,4	38,4	33,7	66,8
Interação B x N	2,53*	1,6^{ns}	0,4^{ns}	1,1*	1,12^{ns}	1,0^{ns}	0,71^{ns}	2,3*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}$ $y = 3,6 + 0,01x + 0,00004x^2$ $R^2 = 0,96$*.

Mediante desdobramento, observa-se na safra "das águas", que a aplicação de bioestimulante e N também promoveram efeitos no teor de Mg, pois ocorreu um decréscimo acentuado à medida que se aumentou a dose de N, e apesar disso, na maior dose um aumento foi observado (Tabela 49). Já na safra "da seca", maiores teores de S foram observados nas doses de 45 e 180 kg ha^{-1} de N quando foi realizado o tratamento de sementes com o bioestimulante. Incremento no teor de $N\text{-}NO_3^-$ foi observado quando ocorreu pulverização foliar no estádio V4 e aplicação de 45 kg ha^{-1} de N na safra "da seca".

Tabela 49. Teor de Mg, S e N-NO_3^- na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Mg (g kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	7,5a	8,1a	8,6a	8,3a	ns
TS	7,3a	7,1a	7,7a	7,2a	ns
V4	7,4a	7,2a	8,7a	8,8a	ns
TS+V4	9,1a	7,3a	4,0b	7,2a	$y = 9,54 -0,09x + 0,0004x^2$ $R^2 = 0,86$*
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 3,21					
			S (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	2,6a	2,2ab	2,5a	2,4ab	ns
TS	2,7a	2,7a	2,2a	2,8a	ns
V4	1,9a	2,3ab	2,3a	2,2ab	ns
TS+V4	2,3a	1,7c	1,8a	1,6b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,8					
			N-NO_3^- (g kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	0,2a	0,2a	0,3b	0,3a	ns
TS	0,2a	0,3a	0,3b	0,4a	ns
V4	0,3a	0,3a	1,1a	0,4a	ns
TS+V4	0,4a	0,4a	0,5b	0,3a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,5					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Na safra "das águas" somente o teor de N-NH_4^+, no estádio R_6, foi influenciado pela aplicação do bioestimulante e nos tratamentos com aplicação do bioestimulante em TS+V4 e V4+R5 foram observados os maiores valores (Tabela 50). Na safra "da seca" todos os tratamentos com o bioestimulante promoveram menores médias em relação a testemunha. Em relação às diferentes doses de N aplicadas em cobertura, observa-se que os teores foram incrementados (Tabela 50). Teixeira et al. (2010) observaram, no feijão BRS-MG Talismã, diferenças significativas nos teores de Mg e S quando aplicaram as dose de 0, 40, 80 e 120 kg ha^{-1} de N em cobertura. Kikuti et al. (2006) em seu experimento com feijão

cultivar BRS Talismã, observaram incrementos no teor de Mg à medida que aumentou a dose de N até 210 kg ha^{-1}, ao contrário do S que não foi influenciado pela adubação nitrogenada, resultado que discorda de Teixeira (1998) e Rodrigues (2001); o mesmo autor explica que diferenças encontradas nos teores de nutrientes podem ser devido a época do cultivo, formas de parcelamento da aplicação de N, métodos de coletas das amostras, doses e cultivares utilizadas.

Tabela 50. Teor de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Mg		S		$N\text{-}NH_4^+$		$N\text{-}NO_3^-$	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^1)							
Testemunha	8,9a	4,6a	1,3a	1,6a	0,7cd	0,4b	0,7a	0,4a
TS	8,3a	4,2a	1,6a	1,5ab	0,8cd	1,1a	0,6a	0,4a
V4	8,7a	4,4a	1,3a	1,3abc	0,6cd	1,2a	0,8a	0,5a
R5	8,1a	4,4a	1,6a	1,4abc	1,0bc	1,2a	1,0a	0,4a
TS+V4	8,6a	4,1a	1,6a	1,5abc	1,4a	1,3a	0,8a	0,4a
TS+R5	8,7a	4,1a	1,7a	1,2c	1,3ab	1,3a	0,8a	0,3a
V4+R5	9,0a	4,6a	1,8a	1,3bc	1,5a	1,2a	0,8a	0,3a
TS+V4+R5	7,6a	4,2	1,6a	1,5ab	0,5d	1,4a	0,7a	0,3a
DMS	1,6	0,9	0,5	0,3	0,4	0,5	0,5	0,2
CV (%)	15,5	16,6	29,6	17,4	31,2	35,4	52,0	42,7
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	8,4	3,7	1,4	1,5	0,8	0,5	0,7	0,2
45	8,3	4,2	1,4	1,3	0,7	1,1	0,8	0,3
90	9,1	4,8	1,7	1,4	1,2	1,4	0,9	0,5
180	8,0	4,7	1,8	1,4	1,2	1,5	0,7	0,5
Efeito	$Q^{(1)}$	$Q^{(2)}$	$L^{(3)}$	ns	$L^{(4)}$	$L^{(5)}$	$Q^{(6)}$	$L^{(7)}$
CV (%)	17,3	11,6	32,7	14,5	32,6	30,3	46,4	53,6
Interação B x N	2,5*	2,4*	1,7*	4,5**	1,9*	3,0*	$0,5^{ns}$	$0,4^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y = 8,3 + 0,01x - 0,00008x^2$ $R^2=0,59$*; $^{(2)}y = 3,7 + 0,02x - 0,000006x^2$ $R^2=0,96$**; $^{(3)}y = 1,38 + 0,002x$ $R^2=0,83$*; $^{(4)}y = 0,7 + 2,5x$ $R^2=0,64$** ; $^{(5)}y = 0,7 + 4,9x$ $R^2=0,79$**; $^{(6)}y = 681,6 + 4,4x - 0,02x^2$ $R^2=0,98$* ; $^{(7)}y = 0,2 + 1,9x$ $R^2=0,90$**.

Pelo desdobramento da interação, observa-se na Tabela 51 que os maiores teores de Mg, tanto na safra “das águas” quanto “da seca”, foram encontrados no tratamento com bioestimulante em V4+R5 nas doses de 45 e 180 kg ha^{-1} de N, respectivamente.

Tabela 51. Teor de Mg na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		Mg (g kg^{-1}) - Águas			
Testemunha	8,6a	7,8a	10,4a	8,7ab	ns
TS	8,6a	7,5a	9,2a	7,9ab	ns
V4	8,4a	9,0a	9,9a	7,3ab	$y=8,30+0,03x-0,0002x^2$ $R^2=0,92$*
R5	8,2a	8,0a	8,8a	7,2ab	ns
TS+V4	8,9a	7,9a	8,5a	9,1ab	ns
TS+R5	8,3a	9,2a	9,0a	8,4ab	ns
V4+R5	8,5a	9,1a	8,9a	9,4a	ns
TS+V4+R5	8,1a	7,9a	8,3a	6,0b	$y=8,50-0,01x$ $R^2=0,70$*
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 3,14					
		Mg (g kg^{-1}) – Seca			
Testemunha	4,1a	4,6a	5,2a	4,3a	$y = 4,0 + 0,02x -0,0001x^2$ $R^2=0,89$*
TS	3,6a	4,1ab	4,8a	4,3a	ns
V4	3,5a	4,6a	4,5a	5,1a	$y = 3,8 + 0,007x$ $R^2=0,78$**
R5	3,9a	4,5a	4,5a	4,8a	$y = 4,1 + 0,004x$ $R^2=0,76$*
TS+V4	3,3a	4,2ab	4,2a	4,9a	ns
TS+R5	3,4a	3,9ab	4,9a	4,4a	ns
V4+R5	3,9a	4,5a	5,4a	4,6a	$y = 43,9 + 0,02x -0,0001x^2$ $R^2=0,91$*
TS+V4+R5	4,0a	3,0b	4,9a	4,9a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,2					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Na safra “das águas” os maiores teores de S foram alcançados quando se aplicou o bioestimulante nas sementes e foi realizada pulverização foliar no estádio R5 (tratamento TS+R5) e 180 kg ha^{-1} de N. Já na safra “da seca” comportamento contrário foi observado para o teor desse nutriente (Tabela 52).

Tabela 52. Teor de S na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		S (g kg^{-1}) - Águas			
Testemunha	1,1a	0,8a	1,6a	1,6ab	ns
TS	1,3a	1,4a	1,4a	2,1ab	ns
V4	1,5a	1,2a	1,5a	1,1b	ns
R5	1,7a	1,4a	1,7a	1,5b	ns
TS+V4	1,4a	1,5a	1,6a	1,9ab	ns
TS+R5	1,3a	1,6a	1,4a	2,7a	ns
V4+R5	1,5a	1,3a	2,4a	1,9ab	ns
TS+V4+R5	1,5a	1,8a	1,8a	1,4b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,1					
		S (g kg^{-1}) - Seca			
Testemunha	1,8a	2,0a	1,3ab	1,4abc	ns
TS	1,6ab	1,3b	1,7a	1,5ab	ns
V4	1,4abc	1,4b	1,3ab	1,2bc	ns
R5	1,6ab	1,2b	1,5a	1,4abc	ns
TS+V4	1,5ab	1,3b	1,3ab	1,6ab	ns
TS+R5	1,6ab	1,1b	1,0b	1,0c	$y = 4,1 + 0,003x$ $R^2=0,60^*$
V4+R5	1,0c	1,2b	1,4ab	1,5abc	$y = 1,1 + 0,002x$ $R^2=0,88^*$
TS+V4+R5	1,3bc	1,4b	1,4ab	1,8a	$y = 1,2 + 0,003x$ $R^2=0,95^{**}$
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,5					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Na Tabela 53, observa-se que todos os tratamentos com bioestimulante e doses de N aplicadas em cobertura promoveram acréscimos no teor de $N\text{-}NH_4^+$, exceto quando nenhuma adubação com N foi realizada. Segundo Luchese et al (2001), quando o N é aplicado no solo na forma de uréia, todo ele é inicialmente convertido a amônio permitindo maior absorção do nutriente nessa forma pelas plantas.

Tabela 53. Teor de $N\text{-}NH_4^+$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	$N\text{-}NH_4^+$ (g kg^{-1}) - Águas				
Testemunha	0,7a	0,4b	0,8cd	0,9cde	ns
TS	0,7a	0,5b	1,1bcd	0,7de	ns
V4	0,5a	0,7ab	0,8cd	0,6de	ns
R5	0,8a	0,9ab	0,9cd	1,3bcd	ns
TS+V4	1,1a	0,9ab	1,9a	1,6ab	ns
TS+R5	1,1a	1,2a	1,4abc	1,5abc	ns
V4+R5	1,0a	1,0ab	1,8ab	2,1a	ns
TS+V4+R5	0,5a	0,3b	0,7d	0,6e	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,7					
	$N\text{-}NH_4^+$ (g kg^{-1}) - Seca				
Testemunha	0,3a	0,4c	0,3b	0,5b	ns
TS	0,3a	0,5bc	1,6a	1,9a	$y = 0,3 + 9,8x$ R^2=0,87**
V4	0,6a	1,6a	1,5a	1,2ab	$y = 0,7 + 19,9x - 0,09x^2$ R^2=0,87**
R5	0,6a	1,2abc	1,4a	1,5a	$y = 0,8 + 4,7x$ R^2=0,81**
TS+V4	0,5a	1,5a	1,5a	1,7a	ns
TS+R5	0,6a	1,1abc	1,9a	1,6a	$y = 0,5 + 2,6x - 0,08x^2$ R^2=0,94*
V4+R5	0,5a	1,3ab	1,2a	1,6a	ns
TS+V4+R5	0,8a	1,2abc	1,6a	1,9a	$y = 0,9 + 6,2x$ R^2=0,94**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,8					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Na Tabela 54, observa-se que o bioestimulante não influenciou a quantidade acumulada de Mg, S, N-NH_4^+ e N-NO_3^-, no estádio V_4, nas safras “das águas” e “da seca”. A aplicação de N reduziu linearmente a quantidade acumulada de S, ou seja, à medida que se aumentou a dose de N até 180 kg ha^{-1} diminuiu seu acúmulo, e comportamento semelhante foi observado no teor desse nutriente nesse mesmo estágio na safra “das águas”.

Os íons NH_4^+ e NO_3^- são as formas predominantes de N mineral disponível às plantas. Nos solos a concentração de NH_4^+ é baixa, devido sua rápida oxidação para NO_3^- (SCHLOERRING et al., 2002). Na planta, as formas, amoniacal (NH_4^+) e nítrica (NO_3^-) possuem diferentes efeitos no crescimento, na qualidade vegetal, na produção de biomassa e na reprodução (LANE; BASSIRIRAD, 2002). Algumas espécies de plantas têm preferência pela absorção de N na forma amoniacal (MALAGOLI et al., 2000). Em algumas culturas, existe efeito negativo do íon NH_4^+ sobre o crescimento, isso se atribui à necessidade de utilização dos carboidratos produzidos, prioritariamente, para a rápida assimilação do amônio absorvido, com vistas a evitar-se sua acumulação e conseqüentes problemas de toxicidade relacionados a alterações no pH celular e desbalanços iônico e hormonal, entre outros (BRITTO; KRONZUCKER, 2002).

Mediante desdobramento, foram observados decréscimos na quantidade acumulada de S quando foi realizado o tratamento de sementes associado às doses de 45 e 180 kg ha^{-1} de N (Tabela 55).

Tabela 54. Quantidade acumulada de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Mg		S		$N\text{-}NH_4^+$		$N\text{-}NO_3^-$	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(kg ha^1)							
Testemunha	1,9a	1,9a	0,8a	1,5a	0,3a	0,1a	0,7a	0,2a
TS	2,1a	1,8a	0,6a	1,4a	0,4a	0,1a	0,8a	0,2a
DMS	0,2	0,5	0,2	0,4	0,2	0,02	0,5	0,1
CV (%)	8,6	23,0	26,7	21,6	43,3	16,6	60,8	0,04
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	1,2	1,6	0,8	1,3	0,29	0,08	0,62	0,1
45	2,0	1,9	0,8	1,6	0,38	0,1	0,78	0,2
90	2,1	1,9	0,7	1,4	0,46	0,1	0,88	0,2
180	2,1	2,0	0,5	1,5	0,40	0,1	0,76	0,2
Efeito	ns	ns	$L^{(1)}$	ns	$Q^{(2)}$	$Q^{(3)}$	ns	ns
CV (%)	22,1	33,9	21,0	20,5	28,3	31,2	66,2	0,06
Interação B x N	$2,3^{ns}$	$0,2^{ns}$	8,59*	$0,9^{ns}$	$0,16^{ns}$	$0,3^{ns}$	$0,43^{ns}$	$2,4^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante) e TS (tratamento de semente). $^{(1)}y = 0,8\text{-}0,002x$ $R^2=0,78^*$; $^{(2)}$ $y = 280,0 + 3,12x\text{-}0,01x^2$ $R^2=0,98^*$; $^{(3)}$ $y = 80,0 + 1,1x\text{-}0,005x^2$ $R^2=0,98^*$.

Tabela 55. Quantidade acumulada de S na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	S (kg ha^{-1}) - Águas				
Testemunha	0,7a	1,0a	0,6a	0,8a	ns
TS	0,8a	0,7b	0,7a	0,2b	$y = 0,9\text{-}0,003x$ $R^2=0,90^{**}$
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,2					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

Somente a quantidade acumulada de S foi influenciada significativamente pela aplicação do bioestimulante no estádio R_5 e no tratamento com aplicação do bioestumulante em TS+V4 foi observado a menor média (Tabela 56). Quantidade acumulada de todos os nutrientes tiveram aumento linear com a aplicação de N em cobertura, tanto na safra "das águas" quanto "da seca", exceto S e $N\text{-}NO_3^-$ nesta última safra (Tabela 56). Souza (2010) também observou incremento no acúmulo de N no feijão cultivar IAC Alvorada, em dois anos agrícolas, quando aplicou 0, 35, 70 e 140 kg ha^{-1} de N. Stone; Moreira (2001) também verificaram incrementos na quantidade acumulada de N na parte aérea do feijoeiro.

Tabela 56. Quantidade acumulada de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Mg		S		$N\text{-}NH_4^+$		$N\text{-}NO_3^-$	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(kg ha^{-1})							
Testemunha	5,9a	4,3a	0,9a	2,5a	0,3a	0,3a	1,0a	0,3a
TS	5,2a	4,3a	0,7a	2,6a	0,3a	0,3a	1,0a	0,3a
V4	5,9a	4,3a	0,9a	2,3ab	0,4a	0,3a	1,0a	0,5a
TS+V4	4,8a	3,4a	0,9a	1,6b	0,4a	0,2a	1,1a	0,4a
DMS	1,6	2,2	0,3	0,8	0,8	0,1	0,6	0,3
CV (%)	26,8	48,6	35,9	34,1	20,1	42,7	57,2	84,0
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	3,9	3,4	0,6	2,2	0,3	0,2	0,6	0,3
45	5,5	3,9	0,9	2,2	0,4	0,3	0,9	0,3
90	5,5	4,3	0,8	2,1	0,4	0,3	1,2	0,5
180	6,9	4,6	1,1	2,5	0,4	0,4	1,3	0,4
Efeito	$L^{(1)}$	$L^{(2)}$	$L^{(3)}$	ns	$L^{(4)}$	$L^{(5)}$	$L^{(6)}$	ns
CV (%)	28,2	30,2	32,0	30,0	26,4	44,0	33,4	66,4
Interação B x N	3,3*	$2,5^{ns}$	$1,9^{ns}$	$1,7^{ns}$	4,9*	1,5*	2,0*	1,3*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}y = 4,2 + 0,01x$ $R^2=0,90^{**}$; $^{(2)}y = 3,6 + 0,006x$ $R^2=0,92^{*}$; $^{(3)}y = 0,7 + 0,002x$ $R^2=0,73^{**}$; $^{(4)}y = 306,0 + 0,76x$ $R^2=0,79^{**}$; $^{(5)}y = 250,7 + 0,58x$ $R^2=0,72^{*}$; $^{(6)}y = 747,3 + 3,6x$ $R^2=0,92^{**}$.

Na Tabela 57, com o desdobramento da interação, observa-se que a quantidade acumulada de Mg, na safra "das águas", foi influenciada pelo bioestimulante quando este foi aplicado nas sementes e via pulverização foliar (tratamento TS+V4) e decréscimos foram observados na dose de 90 kg ha^{-1}, mas um acréscimo acentuado na maior dose de N aplicada também foi observado. Na safra "da seca" incrementos no teor de $N\text{-}NH_4^+$ foram alcançados quando se aplicou 180 kg ha^{-1} de N e as sementes foram tratadas com bioestimulante (tratamento TS). Já para o teor de $N\text{-}NO_3^-$, incrementos foram observados na dose de 90 kg ha^{-1} no tratamento V4.

Tabela 57. Quantidade acumulada de Mg e S na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		Mg (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	3,3a	6,9a	5,8a	7,6a	$y=4,4+0,02x$ $R^2=0,63$*
TS	4,1a	4,9a	5,5a	6,2a	ns
V4	3,5a	5,6a	8,2a	6,4a	$y = 3,3+0,08x-0,0003x^2$ $R^2=0,94$*
TS+V4	4,5a	4,5a	2,6b	7,4a	$y = 4,9-0,05x+0,0003x^2$ $R^2=0,85$*
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 2,9					
		S (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	0,6a	1,1a	0,8ab	0,9a	ns
TS	0,6a	0,7a	0,6b	1,1a	$y = 0,5 + 0,002x$ $R^2=0,73$*
V4	0,7a	1,1a	1,2a	0,9a	ns
TS+V4	0,6a	0,9a	0,8ab	1,4a	$y = 0,6 + 0,004x$ $R^2=0,85$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,5					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Acréscimos foram observados na quantidade acumulada de $N\text{-}NH_4^+$, até a dose de 90 kg ha^{-1} de N, quando foi realizado na safra "das águas", o tratamento de sementes ou pulverização foliar no estádio V4. Na safra "da seca" a maior média alcançada foi observada na maior dose de N aplicada somente quando foi realizado o tratamento de sementes (Tabela 58). Para a quantidade acumulada de $N\text{-}NO_3^-$ na safra "das águas", o

tratamento de sementes, associado à pulverização foliar no estádio V4, promoveram acréscimos quando foram aplicados 180 kg ha^{-1} de N (Tabela 58).

Tabela 58. Quantidade acumulada de $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		$N\text{-}NH_4^+$ (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	0,2a	0,4ab	0,2b	0,4b	ns
TS	0,2a	0,3b	0,5a	0,4b	$y = 0,2 + 3,4x\text{-}0,01x^2$ R^2=0,76*
V4	0,3a	0,5a	0,5a	0,3b	$y = 0,3 + 4,9x\text{-}0,02x^2$ R^2=0,98*
TS+V4	0,3a	0,3b	0,3b	0,6a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,2					
		$N\text{-}NH_4^+$ (kg ha^{-1}) - Seca			
Testemunha	0,2a	0,3a	0,3a	0,3ab	ns
TS	0,2a	0,2a	0,3a	0,5a	$y = 0,2 + 1,4x$ R^2=0,84*
V4	0,3a	0,4a	0,2a	0,4ab	ns
TS+V4	0,3a	0,2a	0,3a	0,2b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,2					
		$N\text{-}NO_3^-$ (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	0,7a	0,9a	1,2a	1,2ab	ns
TS	0,6a	0,9a	1,2a	1,3ab	ns
V4	0,7a	1,1a	1,4a	0,9b	ns
TS+V4	0,6a	0,8a	0,9a	1,8a	$y = 0,5 + 6,6x$ R^2=0,94**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,8					
		$N\text{-}NO_3^-$ (kg ha^{-1}) - Seca			
Testemunha	0,1a	0,3a	0,3b	0,3a	ns
TS	0,2a	0,3a	0,3b	0,4a	ns
V4	0,4a	0,3a	0,8a	0,6a	ns
TS+V4	0,4a	0,3a	0,5ab	0,2a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,5					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Com a aplicação de N em cobertura, aumento linear foi observado nas quantidades acumuladas de S e $N\text{-}NH_4^+$, e efeitos quadráticos para o Mg e $N\text{-}NO_3^-$ na safra "das águas", já na safra "da seca" foram observados somente incremento linear nos teores de Mg, S, $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ (Tabela 59). Segundo Pelegrin et al. (2009), a variabilidade nas respostas do feijoeiro às doses de N tem sido verificada especialmente em função dos níveis de fertilidade do solo e outras técnicas empregadas nos sistemas produtivos, destacando-se o uso de sistemas de irrigação.

Após o desdobramento da interação, o bioestimulante e as doses de N, para o Mg, promoveram decréscimo significativo na quantidade acumulada e foi alcançado na dose de 180 kg ha^{-1} nos tratamentos V4, R5 e TS+V4+R5, contrário do que foi observado nos outros estágios, na safra "das águas" (Tabela 60).

Observa-se na Tabela 61 que, para a quantidade acumulada de S, quando foram aplicados 180 kg ha^{-1} de N a maior média foi promovida pelo tratamento TS+R5, e os tratamentos V4+R5 e TS+V4+R5 proporcionaram reduções acentuadas nas quantidades acumuladas quando foi aplicada essa mesma dose na safra "das águas". Na safra "da seca", quando foram aplicados 45 kg ha^{-1} de N, todas a médias foram inferiores ao tratamento testemunha.

Tabela 59. Quantidade acumulada de nutrientes (Mg e S), $N\text{-}NH_4^+$ e $N\text{-}NO_3^-$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Mg		S		$N\text{-}NH_4^+$		$N\text{-}NO_3^-$	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(kg ha^{-1})							
Testemunha	7,5b	8,4a	1,1b	2,9a	0,5d	0,7b	0,6a	0,7a
TS	8,1ab	7,2a	1,5ab	2,6a	0,7cd	1,8ab	0,7a	0,8a
V4	8,5ab	8,0a	1,3ab	2,3a	0,6d	2,3ab	0,8a	0,9a
R5	8,2ab	7,5a	1,6ab	2,4a	1,0bc	2,2ab	1,1a	0,7a
TS+V4	7,9a	7,6a	1,5ab	2,6a	1,3ab	2,4a	0,8a	0,7a
TS+R5	9,3a	8,7a	1,8a	2,4a	1,4a	2,9a	0,8a	0,7a
V4+R5	9,5ab	8,0a	1,9a	2,2a	1,6a	2,1ab	0,9a	0,6a
TS+V4+R5	7,9ab	7,6a	1,8a	2,7a	1,6d	2,5ab	0,8a	0,6a
DMS	1,6	3,8	0,6	1,1	0,3	1,6	0,5	0,6
CV (%)	15,7	40,5	33,4	37,0	26,9	62,9	50,0	71,2
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	6,3	5,7	1,0	2,3	0,6	0,8	0,5	0,3
45	8,5	7,4	1,4	2,4	0,8	1,9	0,8	0,5
90	9,5	8,9	1,7	2,5	1,2	2,6	1,0	0,9
180	9,1	9,5	2,0	2,8	1,4	3,1	0,9	1,1
Efeito	$Q^{(1)}$	$L^{(2)}$	$L^{(3)}$	$L^{(4)}$	$L^{(5)}$	$L^{(6)}$	$Q^{(7)}$	$L^{(8)}$
CV (%)	19,0	33,8	30,1	31,2	33,6	44,2	44,9	78,5
Interação B x N	2,0*	$1,2^{ns}$	2,5*	2,0*	2,8*	1,5*	0,9*	$0,6^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y = 6,3+0,05x-0,0002x^2$ $R^2=0,99$**; $^{(2)}y = 6,3+0,002x$ $R^2=0,88$**; $^{(3)}y = 1,1+0,005x$ $R^2=0,95$**; $^{(4)}y = 2,3+0,003x$ $R^2=0,99$*; $^{(5)}y = 629,8+4,5x$ $R^2=0,88$**; $^{(6)}y = 1186,5+11,7x$ $R^2=0,88$**; $^{(7)}y = 515,6+8,45x-0,04x^2$ $R^2=0,99$** ; $^{(8)}y = 341,7+4,7x$ $R^2=0,95$**.

Tabela 60. Quantidade acumulada de Mg na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	Mg (kg ha^{-1}) - Águas				
Testemunha	5,4a	7,9a	8,4ab	8,1ab	ns
TS	6,5a	7,4a	8,9ab	9,5ab	$y=6,7+0,02x \quad R^2=0,89^*$
V4	5,7a	9,5a	11,2a	7,8ab	$y=5,7+0,11x-0,0005x^2 \quad R^2=0,99^{**}$
R5	6,3a	7,9a	9,8ab	8,9ab	$y=6,1+0,05x-0,0002x^2 \quad R^2=0,96^*$
TS+V4	6,3a	7,2a	7,3b	10,9a	$y=5,9+0,02x \quad R^2=0,90^{**}$
TS+R5	6,1a	10,1a	10,4ab	10,6a	$y=7,7+0,02x \quad R^2=0,57^*$
V4+R5	6,5a	10,1a	10,7a	10,5a	ns
TS+V4+R5	7,3a	8,1a	9,6ab	6,7b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 3,3					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Tabela 61. Quantidade acumulada de S na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		S (kg ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	0,7a	0,8a	1,3b	1,4bc	y=0,7+0,004x R^2=0,89*
TS	0,9a	1,4a	1,4b	2,3ab	y=0,9+0,007x R^2=0,93**
V4	0,9a	1,3a	1,7b	1,2c	ns
R5	1,3a	1,4a	1,8ab	1,9bc	ns
TS+V4	1,0a	1,4a	1,3b	2,3ab	y=0,9+0,007x R^2=0,91**
TS+R5	0,9a	1,8a	1,5b	3,1a	y=0,9+0,01x R^2=0,84**
V4+R5	1,1a	1,5a	2,8a	2,2abc	ns
TS+V4+R5	1,3a	1,9a	2,1ab	1,8bc	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,1					
		S (kg ha^{-1}) – Seca			
Testemunha	2,6a	4,2a	2,1a	2,9a	ns
TS	3,0a	2,1b	2,6a	2,7a	ns
V4	2,4a	2,1b	2,1a	2,6a	ns
R5	2,2a	2,1b	2,9a	2,5a	ns
TS+V4	2,4a	2,7ab	2,5a	2,6a	ns
TS+R5	2,3a	2,2b	2,2a	2,8a	ns
V4+R5	1,5a	1,7b	3,0a	2,4a	ns
TS+V4+R5	1,8a	2,0b	2,9a	3,8a	y=1,8+0,01x R^2=0,96**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,8					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Ocorreu efeito significativo para as quantidades acumuladas de N-NH_4^+ e os tratamentos TS+V4, TS+R5 e V4+R5 promoveram as maiores médias na safra “das águas”; menores quantidades acumuladas foram observadas no tratamento testemunha e resultados significativos foram encontrados na safra “da seca” (Tabela 62).

Tabela 62. Quantidade acumulada de $N\text{-}NH_4^+$ na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e da "seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	$N\text{-}NH_4^+$ (kg ha^{-1}) - Águas				
Testemunha	0,4a	0,4bc	0,6c	0,8c	ns
TS	0,5a	0,5bc	1,1bc	0,8c	ns
V4	0,3a	0,8abc	0,9c	0,6c	ns
R5	0,6a	0,9abc	1,0bc	1,6b	$y=0,6+5,3x$ $R^2=0,99^{**}$
TS+V4	0,8a	0,8abc	1,7ab	2,1ab	$y=0,7+7,9x$ $R^2=0,89^{**}$
TS+R5	0,8a	1,4a	1,6ab	2,0ab	$y=0,9+5,9x$ $R^2=0,92^{**}$
V4+R5	0,8a	1,1ab	2,1a	2,4a	$y=0,8+9,4x$ $R^2=0,86^{**}$
TS+V4+R5	0,4a	0,2c	0,8c	0,7c	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 0,7					
	$N\text{-}NH_4^+$ (kg ha^{-1}) – Seca				
Testemunha	0,5a	0,9a	0,4b	1,1b	ns
TS	0,5a	0,8a	2,4ab	3,3ab	$y=481,8+16,4x$ $R^2=0,92^{**}$
V4	1,3a	2,4a	2,6ab	2,9ab	ns
R5	0,9a	2,1a	2,9a	3,1ab	$y=1330,3+11,7x$ $R^2=0,79^{*}$
TS+V4	0,8a	2,9a	2,8a	2,8ab	ns
TS+R5	0,9a	2,2a	3,9a	4,6a	$y=1289,9+20,5x$ $R^2=0,90^{**}$
V4+R5	0,8a	2,0a	2,7ab	2,7ab	ns
TS+V4+R5	1,3a	1,5a	3.4a	4,0a	$y=1240,1+16,5x$ $R^2=0,88^{**}$
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 2,3					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

O Mg é absorvido pelas plantas na forma de con bivalente. Por ser o Mg^{2+} um pequeno íon, porém com grande raio de hidratação, sua absorção pode ser fortemente reduzida pelo K^+, NH_4^+ e Ca^{2+}. A deficiência de Mg^{2+} induzida pelos outros cátions competitivos é um fenômeno comum. Quando se refere à interação entre K e Mg, vários trabalhos têm demonstrado que se trata de uma relação antagônica, sendo que o primeiro inibe,

por competição, a absorção do segundo. Isso se deve ao fato de que os íons K^{+} e Mg^{2+} assemelham-se tão estreitamente que os sítios carreadores que transportam um, tem afinidade igual ou aproximadamente igual pelo outro. Esses íons competem por sítios idênticos e interfere um com a absorção do outro. Assim, pode-se dizer que o mesmo tipo de sítio do carregador transporta potássio e magnésio. Também a interação entre magnésio e cálcio parece ser antagônica. Diferentemente dos demais, acredita-se que a interação entre magnésio e fósforo seja sinérgica. Isso poderia ser explicado pela ação do Mg nos sistemas enzimáticos envolvidos em todos os aspectos do metabolismo do P.

Quanto aos teores dos micronutrientes, no estádio V_4 somente o Zn foi influenciado pela aplicação do bioestimulante e mesmo comportamento observado nos macronutrientes, em relação ao tratamento TS, também foi encontrado para esse micronutriente; a aplicação do produto nas sementes reduziu em 26,1% o teor de Zn na parte aérea do feijoeiro em relação à testemunha na safra “das águas”. Na safra “da seca” somente o B foi influenciado pela aplicação do bioestimulante que promoveu menores teores em relação à testemunha (Tabela 63). Resultados que contradizem Castro et al. (1998) que afirmam que o bioestimulante incrementa o crescimento e desenvolvimento do vegetal e, portanto, aumenta a absorção e utilização dos nutrientes.

Em relação à aplicação de diferentes doses de N em cobertura, na Tabela 59 observa-se que no teor de Cu, na safra “da seca” e no teor de B, nas safras “das águas” e “da seca”, ocorreram aumentos lineares até a aplicação de 180 kg ha^{-1} de N. Teixeira et al. (2010) quando aplicaram 0, 40, 80 e 120 kg ha^{-1} de N no feijão BRS-MG Talismã observaram incrementos no teor de Cu e Mn, eles explicam que a presença desses nutrientes no material foliar pode estar relacionado com a adubação de semeadura realizada, o que promoveu menor competição intra-específica pelo existência de um menor estande.

No estádio R_5, o bioestimulante, na safra “das águas”, influenciou os teores dos micronutrientes avaliados (Tabela 64). Comportamento contrário ao estádio V_4, porém significativo, foi observado nesse estádio para o teor de Cu onde o tratamento TS, e todos os outros, foram estatisticamente inferiores à testemunha. Para o Zn, ao contrário do que aconteceu no estádio V_4, a aplicação do produto nas sementes proporcionou os maiores teores desse micronutriente e valores superiores à testemunha também foram encontrados quando foi realizada pulverização foliar no estádio V4 (tratamento V4).

Tabela 63. Teor de micronutrientes (B, Cu, Zn e Mn) na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Cu		Zn		Mn		B	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(mg kg^{-1})							
Testemunha	14,5a	69,7a	55,5a	117,2a	95,4a	102,6a	25,7a	82,6a
TS	20,9a	73,9a	44,0b	127,5a	70,4a	115,7a	26,1a	74,0b
DMS	10,9	5,0	8,93	25,7	30,36	23,3	3,13	7,3
CV (%)	54,7	6,2	15,9	18,6	32,5	19,0	10,7	8,3
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	13,2	59,2	56,50	114,7	106,2	109,5	24,5	82,3
45	28,6	69,2	53,00	126,7	91,5	105,2	25,6	78,5
90	15,2	70,8	47,50	112,9	76,8	117,1	25,6	77,0
180	13,7	88,0	42,00	135,0	57,0	104,7	27,9	75,3
Efeito	ns	$L^{(1)}$	ns	ns	ns	ns	$L^{(2)}$	$L^{(3)}$
CV (%)	75,9	27,0	38,8	21,4	70,1	15,0	6,9	8,4
Interação B x N	$0,9^{ns}$	$1,5^{ns}$	$1,1^{ns}$	$0,002^{ns}$	$1,3^{ns}$	$1,6^{ns}$	$5,4^{ns}$	$0,8^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante) e TS (tratamento de semente). $^{(1)}y = 59,8 + 0,1x \;\; R^2 = 0,96^*$; $^{(2)}y = 24,5 + 0,01x \;\; R^2 = 0,94^*$; $^{(3)}y = 81,1 - 0,04x \;\; R^2 = 0,86^*$.

Na safra "da seca" valores inferiores foram encontrados, no estádio V_4, para os teores de Cu, Zn e Mn quando ocorreu aplicação de bioestimulante via semente ou foliar (Tabela 63). O Mn atua em processos de ativação de diferentes enzimas, síntese de clorofila e fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2009), e em todos esses processos há participação ativa da auxina, citocinina e giberelina, o que é comprovado pelo maior conteúdo desse nutriente nos tratamentos com o bioestimulante. Inclusive, segundo Taiz; Zeiger (2009) e Marschner (1995), o Mn participa, juntamente com outros compostos, inclusive a auxina, na elongação celular. Segundo Stonier et al. (1968) e Morgan et al. (2006) o excesso, ou a deficiência, de manganês pode inibir a atividade da auxina pela sua interação direta com os protetores da auxina, oxidado-os, ou ainda pela rapidez da transferência de elétrons pela auxina para um aceptor, diminuindo sua proteção.

Nesse trabalho, pelos resultados encontrados, parece ter havido compatibilidades nos teores de Mn e ação dos reguladores vegetais presentes no bioestimulante (Tabela 64). Para o B, na safra “das águas”, todos os tratamentos relacionados às formas e épocas de aplicação do bioestimulante foram superiores à testemunha e a maior média encontrada (no tratamento TS+V4) foi 19,5% superior a essa, comportamento semelhante foi observado na safra “da seca”. Lana et al. (2009) quando aplicaram o mesmo bioestimulante nas sementes, aos 15 e 30 dias após a emergência e no pré-florescimento, não observaram efeitos significativos nos teores de micronutrientes no feijoeiro cultivar Carioca.

Tabela 64. Teor de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Tratamento	Cu		Zn		Mn		B	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(mg kg^{-1})							
Testemunha	47,2a	81,5a	61,0bc	136,7a	116,0ab	105,6a	27,2c	63,2a
TS	31,7b	71,6a	70,5a	128,0a	105,1b	109,9a	29,6b	61,7a
V4	28,6b	78,4a	66,7ab	125,7a	126,2ab	107,4a	30,3b	72,1a
TS+V4	31,1b	20,5b	56,1c	47,0b	182,5a	95,9a	32,5a	62,2a
DMS	11,6	30,2	8,2	16,9	67,4	37,6	1,6	16,9
CV (%)	30,2	43,4	11,7	13,9	46,1	32,5	4,7	23,7
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	33,0	76,0	60,9	116,9	154,6	104,7	29,2	65,3
45	32,7	65,9	65,6	107,5	116,3	99,0	31,5	62,4
90	26,9	61,0	64,1	108,6	110,5	112,2	28,5	62,2
180	46,1	49,1	63,7	104,5	148,2	102,7	30,5	69,3
Efeito	Q$^{(1)}$	L$^{(2)}$	ns	ns	Q$^{(3)}$	ns	ns	ns
CV (%)	38,3	39,2	15,5	14,7	35,5	31,9	10,1	20,8
Interação B x N	14,3*	1,7^{ns}	4,8*	0,7^{ns}	3,4*	0,6^{ns}	1,1*	1,8*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}y = 34,3-0,17x+0,001x^2$ $R^2=0,89^*$; $^{(2)}y = 74,3-0,1x$ $R^2=098^*$; $^{(3)}y = 153,3-0,98x+0,005x^2$ R2=0,99*.

Observa-se que as doses de N influenciaram de forma semelhante os teores de Cu e Mn, na safra “das águas”, pois um efeito quadrático foi observado e teores máximos foram proporcionados quando foram aplicadas as doses calculadas de 85 e 98 kg ha^{-1} de N, respectivamente (Tabela 64). Andrade et al. (2005) verificaram que à medida que aumentaram as doses de N ocorreu incremento nos teores de Cu, B, Zn e Mn, eles explicam que esse resultado pode ter sido devido aos benefícios inerentes ao N, assim como a acidificação do solo causada pela adição desse nutriente que aumenta a disponibilidade dos micronutrientes em questão.

Mediante desdobramento da interação, observa-se que para os teores de Cu na safra “das águas”, somente na dose de 90 kg ha^{-1} de N não houve diferença estatística e apenas na dose de 45 kg ha^{-1} o uso do bioestimulante (tratamento TS+V4) foi superior à testemunha (Tabela 65).

Tabela 65. Teor de Cu na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na “das águas”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Cu (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	51,5a	21,0c	28,5a	88,0a	$y = 49,6-0,77x+0,005x^2$ $R^2=0,98$**
TS	33,5ab	41,5ab	18,5a	33,5b	ns
V4	28,5ab	18,5b	34,5a	33,0b	ns
TS+V4	18,5b	50,0a	26,0a	30,0b	ns

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 26,6

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

As menores doses de N proporcionaram os maiores teores de Zn e vice-versa, na safra “das águas” (Tabela 66). Pulverizações foliares no estádio V4 promoveram acentuada redução no teor desse micronutriente na medida em que se aumentou a dose de N.

Tabela 66. Teor de Zn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Zn (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	46,0b	51,5b	71,5a	75,0a	y = 47,5+0,17x R^2=0,84**
TS	70,5a	79,5a	66,0a	66,0ab	ns
V4	71,0a	66,5ab	73,0a	56,5b	y = 72,5-0,07x R^2=0,58**
TS+V4	56,0ab	65,0ab	46,0b	57,5ab	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) =17,5					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

Na safra "das águas", quando foi aplicada a dose de 45 kg ha^{-1} de N, o tratamento com aplicação do bioestimulante em TS+V4 proporcionou maior teor de Mn (Tabela 67). O tratamento V4, apesar de promover decréscimo com o aumento da dose de N, proporcionou um considerável aumento nessa variável na dose de 180 kg ha^{-1}.

O bioestimulante e o N em cobertura influenciaram também o teor de B, na safra "das águas", sendo maiores os valores nos tratamentos com aplicação em V4 e TS+V4, quando foram aplicados 45 kg ha^{-1} e 90 kg ha^{-1} de N (Tabela 67). Na safra "da seca" resultados significativos foram encontrados somente quando foram aplicados 180 kg ha^{-1} juntamente com a pulverização foliar no estádio V4. Na safra "das águas", apesar dos resultados não significativos para os teores de B nas doses de 45 e 180 kg ha^{-1}, se observa que em todas as doses de N aplicadas, todas as formas e épocas de aplicação do bioestimulante promoveram acréscimos em relação à testemunha, e mesmo quando não ocorreu nenhuma adubação em cobertura com o N, médias semelhantes foram encontradas em relação àquelas em que foi realizada essa prática (Tabela 67).

Tabela 67. Teor de Mn e B na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Mn (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	106,5a	73,0b	140,0a	144,5a	ns
TS	126,0a	44,4b	107,0a	143,0a	ns
V4	189,5a	114,0b	81,2a	120,0a	$y = 188,8-2,04x+0,009x^2$ $R^2=0,99$*
TS+V4	196,5a	234,0a	114,0a	185,5a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 96,6					
			B (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	24,7b	30,1a	26,8b	27,4a	ns
TS	29,8ab	30,0a	27,5b	31,2a	ns
V4	31,6a	31,7a	26,9b	30,9a	ns
TS+V4	30,6a	34,1a	32,9a	32,4a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 5,14					
			B (mg kg^{-1}) - Seca		
Testemunha	66,6a	63,9a	62,3a	60,5b	ns
TS	64,2a	58,1a	57,1a	67,2ab	ns
V4	63,5a	61,4a	71,1a	92,4a	$y = 58,4 – 0,17x$ $R^2=0,89$*
TS+V4	67,4a	66,3a	58,3a	57,0b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 26,4					

Médias seguidas da mesma letra na coluna e linha, em diferentes formas de aplicação do bioestimulante e diferentes doses de N, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

No estádio R_6 (Tabela 68), os teores de Cu, Zn e B foram influenciados, na safra "das águas", pela aplicação do bioestimulante, e comportamentos semelhantes entre eles foram observados, pois para cada nutriente, as maiores médias encontradas foram promovidas pelos tratamentos sem associações do bioestimulante, ao contrário dos menores valores encontrados. O maior teor de Cu foi proporcionado pelo tratamento TS, o que refletiu na sua quantidade acumulada, além desse, o tratamento R5 também promoveu similar comportamento. O Zn teve maior teor quando o tratamento de

sementes (tratamento TS) ou pulverização foliar no estádio V4 (tratamento V4) foram realizadas. A disponibilidade do Zn varia em diferentes tipos de solos (MALAVOLTA, 1980) e segundo Fageria; Stone (2004) o seu teor ou acúmulo, assim como do Fe e Mn, diminui com variações no ambiente e solo (por exemplo, aumento de pH), porém, no presente caso não ocorreu redução suficiente deste nutriente, no estádio V_4, a ponto de causar o mesmo efeito do seu teor no estádio R_6. Para o B, no estágio R6, quando o bioestimulante foi aplicado via foliar no estádio V4 (tratamento V4) foi promovido o maior teor desse micronutriente. Na safra "da seca" resultados significativos foram encontrados para os teores de Cu, Zn e B. Para Cu e Zn valores superiores foram observados com a aplicação do bioestimulante no estádio R5 através de pulverização foliar (Tabela 68).

As doses de N aplicadas em cobertura influenciaram somente o teor de Mn (na safra "das águas") e de B (na safra "da seca"), caracterizado por um aumento linear e uma função quadrática, respectivamente (Tabela 68). O Mn tem importante papel no metabolismo das plantas, pois atua em processos de ativação de diferentes enzimas, síntese de clorofila e fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2009). Esse nutriente desempenha papel fundamental na elongação celular e sua deficiência pode inibir a síntese de lipídios ou metabólitos secundários, como o ácido giberélico e os isoprenóides (Malavolta et al., 1997). Disponibilidade de Mn às plantas é dependente de diversos fatores como o equilíbrio com outros cátions, principalmente o Fe, Ca e Mg (FAGERIA, 2001). Assim, altas doses de K podem limitar o desenvolvimento da planta, por provocar deficiência de Mn (ROSOLEM; NAKAGAWA, 1990).

Mediante o desdobramento da interação BxN, no estádio R_6, resultados significativos foram encontrados somente na safra "das águas" para Cu, Zn e Mn (Tabela 69). No tratamento V4+R5 o maior teor de Cu foi promovido quando nenhuma aplicação em cobertura com N foi realizada, e ainda teve redução a partir da primeira dose de N. No tratamento R5, o teor de Cu apresentou decréscimos a partir de 90 kg ha^{-1} de N. Ainda para o Cu o tratamento TS teve semelhante comportamento em relação ao tratamento R5 e a maior média alcançada foi na dose recomendada para a cultura do feijoeiro, porém redução ocorreu na dose de 180 kg ha^{-1}. Quando foi realizada pulverização foliar no estádio V4, obteve-se o maior teor de Cu somente quando foram aplicados 180 kg ha^{-1} de N (Tabelas 69).

Tabela 68. Teor de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Cu		Zn		Mn		B	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(mg kg^{-1})							
Testemunha	13,2abc	21,2b	51,4bc	50,0ab	148,7a	95,7a	33,4ab	54,1a
TS	19,8a	14,4b	71,2a	46,8b	166,7a	99,8a	33,3abc	50,4a
V4	13,9abc	13,8b	67,7a	48,4b	132,6a	100,4a	37,9a	51,6a
R5	17,5ab	83,9a	56,0b	66,1a	146,5a	99,5a	34,6ab	50,5a
TS+V4	6,5c	19,7b	48,1bcd	40,2b	171,5a	104,7a	31,8bc	52,6a
TS+R5	9,5abc	21,0b	43,2cd	35,9b	198,7a	94,2a	30,4bc	40,2b
V4+R5	14,2abc	48,5ab	49,0bcd	43,5b	141,7a	96,1a	30,7bc	35,8bc
TS+V4+R5	7,4bc	41,0ab	41,2d	40,9b	163,5a	97,1a	27,9c	30,1c
DMS	10,48	56,9	9,73	17,4	72,0	34,9	5,44	7,5
CV (%)	29,2	45,8	15,3	31,6	38,2	29,9	14,1	13,9
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	11,5	36,7	51,4	42,3	146,7	98,1	32,5	51,5
45	11,9	39,7	55,9	50,7	154,8	99,5	32,3	43,3
90	13,6	30,0	52,1	45,7	143,9	101,2	33,7	42,0
180	13,9	25,4	54,7	47,3	189,6	94,9	31,5	45,8
Efeito	ns	ns	ns	ns	L$^{(1)}$	ns	ns	Q$^{(2)}$
CV (%)	31,2	30,3	19,1	25,3	46,4	31,2	12,2	17,4
Interação B x N	2,7*	1,9^{ns}	1,4*	2,3^{ns}	1,9*	1,2^{ns}	2,2*	3,0*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y = 140,8+0,23x$ $R^2=0,69$*; $^{(2)}y = 1,1-0,2x+0,0009x^2$ $R^2=0,96$**.

Para o Zn, a aplicação do bioestiumlante e N afetaram somente o teor desse nutriente (Tabela 69) e ocorreu interação entre todas as doses de N e os tratamentos com bioestimulante; pode-se observar que mesmo na dose de 0 kg ha^{-1} de N comportamento semelhante foi alcançado nos tratamentos sem associações, pois nesses (tratamentos TS, V4 ou R5) foram encontrados os maiores teores, porém, os tratamentos V4 e R5, ao contrário dos tratamentos TS e TS+V4, diminuíram o teor de Zn à medida que aumentou a dose de N.

Tabela 69. Teor de Cu, Zn e Mn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Cu (mg kg^{-1}) – Águas		
Testemunha	7,5ab	14,5ab	14,5ab	16,5ab	ns
TS	14,5ab	15,9ab	32,5a	16,5ab	$y = 11,9+0,31x-0,002 x^2$ R^2=0,62*
V4	6,0b	11,0ab	9,0b	29,5a	$y = 3,9+0,13x$ R^2= 0,84**
R5	19,9ab	28,5a	10,0b	11,5ab	$y = 23,02-0,07x$ R^2= 0,40*
TS+V4	6,0b	5,54b	9,0b	5,5b	ns
TS+R5	3,5b	3,5b	16,0ab	15,0ab	ns
V4+R5	27,0a	9,0ab	10,5b	10,5ab	$y = 25,3-0,32x+0,001x^2$ R^2=0,84*
TS+V4+R5	8,0ab	7,5b	7,5b	6,7b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 19,8					
			Zn (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	51,0bc	49,5bc	54,0bc	51,0b	ns
TS	54,5bc	74,0a	77,0a	79,5a	$y = 61,8+0,12x$ R^2=0,65*
V4	80,5a	70,5b	62,0ab	58,0b	$y = 77,3-0,12x$ R^2=0,87*
R5	62,0ab	68,0ab	52,5bc	41,5b	$y = 66,6-0,13x$ R^2=0,80*
TS+V4	40,5c	55,0abc	43,0bc	54,0b	ns
TS+R5	34,0c	46,0c	40,0c	53,0b	$y = 36,2+0,09x$ R^2=0,71*
V4+R5	47,5bc	42,0c	50,0bc	56,1b	ns
TS+V4+R5	41,0bc	42,0c	38,0c	44,2b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 21,4					
			Mn (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	172,5a	113,5a	165,5a	143,0bc	ns
TS	143,5a	212,0a	139,5a	172,0bc	ns
V4	173,0a	119,5a	128,0a	110,0c	ns
R5	153,0a	118,5a	178,0a	136,5bc	ns
TS+V4	143,0a	213,0a	122,0a	207,5abc	ns
TS+R5	108,5a	206,5a	150,5a	330,0a	$y = 111,6+1,1x$ R^2=0,78**
V4+R5	160,0a	90,0a	166,0a	151,0bc	ns
TS+V4+R5	120,0a	166,0a	101,5a	266,7ab	$y = 105,4+0,74x$ R^2=0,59*
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 154,9					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

No estádio R_6, obteve-se maior teor e quantidade acumulada de Mn quando o bioestimulante foi aplicado na semente associado à pulverização foliar no estádio R5 (tratamento TS+R5) e foram aplicados 180 kg ha^{-1} de N (Tabela 69). O tratamento TS+V4+R5 após decréscimo na dose de 90 kg ha^{-1} de N promoveu incremento no teor de Mn na maior dose de N aplicada.

Na safra “das águas”, no tratamento TS, acréscimos no teor de B foram observados com a aplicação de 180 kg ha^{-1} de N, para o tratamento V4 incrementos foram promovidos nas doses de 45 e 90 kg ha^{-1}, e para o tratamento R5 a maior média para o teor de B foi proporcionada quando se aplicou 45 kg ha^{-1}. Nesse estádio, independente da dose de N aplicada em cobertura (ou mesmo quando essa prática não ocorreu), as médias foram semelhantes entre si (Tabela 70). Na safra “da seca” decréscimos foram observados no tratamento testemunha à medida que se aumentou a dose de N até 180 kg ha^{-1}.

Não houve influência do bioestimulante na quantidade acumulada de Cu, no estádio V_4, na safra “das águas” e “da seca” (Tabela 71). Isso pode ter sido devido à presença do Zn e/ou P em maior teor e quantidade nesses estádios, pois competem pelo mesmo sítio ou promove diminuição quando em maior concentração, respectivamente; comportamento semelhante foi observado no seu teor, e apesar de não ter apresentado diferença significativa, no estádio V_4, o tratamento TS promoveu acréscimos no acúmulo de Cu. Assim como o Cu, a quantidade acumulada de Zn e Mn não foram influenciados pela aplicação do bioestimulante nas sementes. Porém, foi observado acréscimo de 23,2% na quantidade acumulada de B, na safra “das águas”, quando ocorreu aplicação do bioestimulante.

As diferentes doses de N aplicadas influenciaram somente a quantidade acumulada de Cu, na safra “da seca” e do B na safra “das águas”, ocorreu aumento linear na medida em que se aumentou a doses de N aplicada (Tabela 71). Apesar de não ter sido comprovada a influência do N sobre o Cu observa-se que ocorreu uma redução no acúmulo desse nutriente com o excesso de N, na safra “das águas”, apesar disso, parece ter havido uma melhora, promovida pelo bioestimulante, no metabolismo do feijoeiro, para que essa deficiência não ocorresse.

Tabela 70. Teor de B na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			B (mg kg^{-1}) – Águas		
Testemunha	33,9ab	31,1a	34,5ab	34,0abc	ns
TS	27,7b	30,7a	36,1ab	38,6a	$y = 28,4+0,06x$ $R^2=0,91^{**}$
V4	39,5a	36,4a	39,7a	35,9ab	ns
R5	38,8a	32,0a	33,3ab	34,3abc	$y = 30,1-0,12x+0,0005x^2$ $R^2=0,76^{*}$
TS+V4	31,9ab	34,5a	34,3ab	26,5cd	$y = 31,9-0,08x+0,0006x^2$ $R^2=0,99^{*}$
TS+R5	28,2b	34,7a	30,7ab	28,1bcd	ns
V4+R5	30,9ab	30,6a	31,3ab	29,9abcd	ns
TS+V4+R5	28,9b	28,0a	30,0b	24,5d	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 9,1					
			B (mg kg^{-1}) – Seca		
Testemunha	76,2a	49,3ab	45,6abc	45,2ab	$y = 74,5-0,56x+0,002x^2$ $R^2=0,95^{**}$
TS	50,5bcd	49,3ab	48,0ab	53,9a	ns
V4	50,4bcd	46,9ab	52,7a	56,3a	ns
R5	49,7bcd	54,0a	43,3abc	54,9a	ns
TS+V4	54,0bc	46,9ab	52,1a	57,5a	ns
TS+R5	57,1b	34,1bc	34,7bc	34,9b	ns
V4+R5	40,4cd	46,9ab	30,1c	30,6b	ns
TS+V4+R5	34,1d	24,0c	29,6c	32,7b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 16,6					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em diferentes formas de aplicação do bioestimulante e diferentes doses de N, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Tabela 71. Quantidade acumulada de micronutrientes (B, Cu, Zn e Mn) na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Tratamento	Cu		Zn		Mn		B	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g ha^{-1})							
Testemunha	3,7a	37,6a	14,5a	68,9a	24,2a	54,4a	6,9b	44,4a
TS	6,7a	39,2a	13,9a	61,5a	22,6a	59,9a	8,5a	38,8a
DMS	1,6	6,9	0,6	22,7	3,4	12,3	1,6	8,8
CV (%)	27,7	15,9	3,9	30,9	13,2	19,1	18,0	18,8
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	3,0	28,6	13,0	54,5	25,1	51,3	6,0	38,7
45	4,6	38,5	17,3	72,5	30,5	58,8	8,1	45,1
90	4,1	38,2	13,4	59,5	20,3	60,9	7,6	40,4
180	4,2	48,3	13,3	74,4	17,8	57,5	9,1	42,3
Efeito	ns	L$^{(1)}$	ns	ns	ns	ns	L$^{(2)}$	Ns
CV (%)	23,5	32,5	23,0	27,6	37,9	24,6	21,6	22,9
Interação B x N	42,1^{ns}	0,6^{ns}	1,3^{ns}	0,1^{ns}	2,9*	0,3^{ns}	2,2^{ns}	0,4^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em dada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante) e TS (tratamento de semente). $^{(1)}y = 30,5+0,1x$ $R^2 = 0,91$*; $^{(2)}y = 6,6+0,01x$ $R^2 = 0,76$*.

Após o desdobramento da interação, observa-se que, na safra “das águas”, o acúmulo de B na parte aérea foi incrementado com o uso de bioestimulante nas sementes à medida em que se aumentou as doses de N (Tabela 72).

Tabela 72. Quantidade acumulada de Mn e B na parte aérea do feijoeiro, no estádio V_4, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		Mn (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	28,9a	24,3b	26,3a	17,2a	ns
TS	21,2a	36,6a	14,3b	18,4a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) =11,6					
		B (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	4,8b	8,5a	6,7a	7,5b	ns
TS	7,3a	7,7a	8,6a	10,6a	$y = 7,0+0,02x$ $R^2=0,98$*
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) =2,3					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente).

Resultados significativos foram encontrados para a quantidade de Zn e Mn na safra "das águas", e Cu e Zn na safra "da seca" (Tabela 73). As diferentes doses de N aplicadas em cobertura influenciaram o acúmulo de Cu, Zn, Mn e B e promoveram incrementos lineares até a maior dose de N. Andrade et al. (1998) também verificaram aumento do teor foliar de Zn no feijoeiro em função da adubação nitrogenada. Teixeira et al. (2010) quando aplicaram 0, 40, 80 e 120 kg ha^{-1} de N no feijão observaram incrementos nos teores de Cu e Mn apesar dos resultados não significativos para o acúmulo desses micronutrientes. Eles explicam que isso se deve ao fato da cultura do feijoeiro ter respondido em produção de fitomassa à aplicação do N, o que pode ter diluído o nutriente e dessa forma a estimativa do acúmulo de micronutrientes não terem sido influenciadas pelas doses de N.

Tabela 73. Quantidade acumulada de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B) na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Cu		Zn		Mn		B	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g ha^{-1})							
Testemunha	21,9a	81,8a	45,1ab	139,6a	85,9ab	107,9a	19,8a	66,4a
TS	20,5a	72,0a	49,5a	128,5a	74,1b	109,0a	20,2a	62,0a
V4	21,2a	79,1a	48,7a	132,4a	83,4ab	106,7a	21,9a	78,0a
TS+V4	21,2a	18,6b	38,4b	41,4b	122,9a	80,3a	22,5a	53,7a
DMS	5,7	39,5	8,8	38,1	48,1	33,4	5,5	33,0
CV (%)	24,6	56,9	17,6	31,3	47,6	29,9	23,3	46,1
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	16,4	70,6	30,4	108,7	77,3	93,2	14,3	60,4
45	21,4	69,2	47,6	110,5	79,2	96,2	23,2	62,4
90	20,2	57,2	48,4	105,6	78,9	105,7	20,4	59,6
180	26,7	54,8	55,4	117,0	131,9	108,7	26,7	76,8
Efeito	L$^{(1)}$	ns	L$^{(2)}$	ns	L$^{(3)}$	ns	L$^{(4)}$	ns
CV (%)	25,8	43,1	23,7	25,2	24,6	32,8	27,8	35,4
Interação B x N	6,9**	1,6^{ns}	4,5*	1,6^{ns}	6,7**	0,8^{ns}	1,4^{ns}	2,3^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4). $^{(1)}y = 17,1+0,05x$ $R^2=0,87**$; $^{(2)}y = 35,9+0,12x$ $R^2=0,77**$; $^{(3)}y = 67,6+0,3x$ $R^2=0,79**$; $^{(4)}y = 16,7+0,06x$ $R^2=0,73**$.

No estádio R_5, somente Cu, Zn e Mn foram influenciados pela interação entre as diferentes formas e épocas de aplicação do bioestimulante e das doses de N (Tabela 74). Mediante desdobramento da interação verifica-se efeito significativo da aplicação do bioestimulante para acúmulo de Cu somente nas doses de 0, 45 e 90 kg ha^{-1} de N; na primeira dose a maior média foi observada no tratamento Testemunha, nas outras doses, o tratamento de sementes associado à pulverização foliar no estádio V4, ou somente a pulverização foliar, promoveram as maiores médias, e ainda, o aumento das doses de N promoveram incrementos no acúmulo desse micronutriente.

Para o Zn, houve efeito da aplicação do bioestimulante somente na presença das doses de 0, 90 e 180 kg ha^{-1} de N (Tabela 74). Para o Mn, as maiores médias

foram promovidas quando ocorreu aplicação do bioestimulante na semente e via foliar no estádio V4 (tratamento TS+V4) e resultados significativos foram encontrados somente nas doses de 45 e 180 kg ha^{-1} de N (Tabela 74).

Tabela 74. Quantidade acumulada de Zn e Mn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_5, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		Cu (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	24,6a	17,6b	19,8b	25,8a	ns
TS	17,9ab	23,3ab	13,4b	27,3a	ns
V4	13,4b	14,6b	31,6a	25,2a	$y = 10,9+0,3x-0,001x^2$ $R^2=0,70$*
TS+V4	9,8b	30,2a	16,1b	28,6a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 10,2					
		Zn (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	20,2b	43,4a	49,2ab	67,5a	$y = 25,8+0,2x$ $R^2=0,93$**
TS	40,7a	54,5a	47,6bc	55,3ab	ns
V4	32,9ab	53,1a	67,5a	41,3b	$y = 31,9+0,7x-0,003x^2$ $R^2=0,98$**
TS+V4	27,6ab	39,5a	29,2c	57,5ab	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 19,1					
		Mn (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	48,7a	62,5bc	99,2a	133,2ab	$y = 47,2+0,5x$ $R^2=0,97$**
TS	75,1a	26,9c	76,6a	117,9b	ns
V4	84,8a	93,7ab	67,2a	87,8b	ns
TS+V4	100,4a	133,8a	72,5a	185,2a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 56,9					

Médias seguidas da mesma letra na coluna e linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4) e TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4).

No estádio R_6, na safra “das águas”, o Cu, Zn e Mn foram influenciados pelo bioestimulante; para o Cu, a maior média foi proporcionada pelo tratamento TS, além desse, o tratamento R5 também promoveu semelhante comportamento (Tabela 75). Para Zn e Mn, as maiores médias foram observadas no tratamento TS e TS+V4+R5, respectivamente. Na safra “da seca” teores de Cu e B foram influenciados pela aplicação do bioestimulante e, as maiores e menores doses desses nutrientes, foram encontradas nos tratamentos R5 e TS+R5, respectivamente. Poucos, ou quase inexistentes, são os trabalhos relacionando o uso de bioestimulante e teor ou acúmulo de micronutrientes em diversas culturas, incluindo o feijao comum, mas muitos trabalhos relatam a “parceria” entre os reguladores vegetais como auxina e citocinina com os micronutrientes B, Mn, e Cu, Zn, respectivamente, e seus teores nas grandes culturas.

Segundo Jarvis et al. (1983), o B pode afetar o processo de enraizamento em feijão mungo verde e concentrações acima do ótimo pode afetar a formação de primórdios radiculares. Autores como Dyar; Webb (1961), Jarvis et al. (1983) e Jarvis et al. (1984) esclarecem que o B, através de um efeito indireto na atividade da enzima peroxidase/ácido indolilacético oxidase (IAA-oxidase) pode controlar a concentração de auxina efetiva nos locais de iniciação radicular, mas isso depende do estádio de desenvolvimento da raiz.

Os autores Morgan et al. (2006) observaram que a deficiência ou excesso de Mn incrementaram a IAA-oxidase em plantas de algodão cultivar Deltapine 15, o contrário foi observado quando níveis ótimos desse nutriente foram fornecidos. Mckenzie et al. (1998) relataram sobre o papel do Cu como indutor genético no incremento da citocinina em *Nicotiana tabacum*. Thomas et al. (2005) relataram o papel do Cu no transporte ou síntese da citocinina em fumo. Já Chatfield; Armstrong (1987) observaram o papel do mesmo micronutriente na atividade da enzima citocinina oxidase em feijão cultivar Great Northern.

Com relação ao Zn, Lukatkin et al. (2007) avaliando a relação entre Zn e citocinina relataram que esse micronutriente pode afetar a atividade da nitrato redutase, porém em seu experimento com milho observaram que a aplicação de citocinina exógena, como a cinetina, pode reduzir o efeito tóxico do Zn; eles ainda observaram que o micronutriente em questão apresentou maior afinidade pela cinetina e concluíram que os efeitos tóxicos oriundos de micronutrientes são mediados por diferentes mecanismos.

Nakagawa et al. (2005) observaram o papel do Zn na síntese e atividade da citocinina e sua ação gênica no incremento de ramos laterais, folhas e flores de Petúnia, fumo e gênero *Arabidopsis*. Dessa forma, a ação conjunta entre os reguladores vegetais e os referidos micronutrientes podem ter resultado nas mais variadas respostas em diferentes estádios fenológicos avaliados no presente trabalho.

Em relação à aplicação de N todos os micronutientes avaliados alcançaram aumentos lineares após as diferentes doses desse nutriente aplicado em cobertura, exceto Cu e B na safra "da seca". Apesar de não ter sido comprovada estatisticamente a relação entre Cu e as doses de N, a sua quantidade acumulada foi incrementada à medida que se aumentou a dose de N (Tabela 75). Resultados contrários foram observados por Zanão Junior et al. (2005), eles observaram que a aplicação de 105, 210, 315 e 420 kg ha^{-1} de N na Couve-da-Malásia não influenciou no acúmulo de B, porém encontraram incrementos quadráticos para o acúmulo de Cu, e lineares para Zn e Mn. Já Alvarenga et al. (2000) concluíram que as diferentes doses de N aplicadas contribuíram para o acúmulo de micronutrientes avaliados aos 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias após o transplante da alface cultivar Ryder (alface Americana).

Resultados significativos foram encontrados somente para a safra "das águas" em relação ao desdobramento da interação BxN (Tabela 76). No estádio R_6, acúmulos de Cu, Zn e Mn apresentaram diferenças significativas em relação à aplicação do bioestimulante e do N (Tabela 76). O acúmulo de Cu foi influenciado por todas as doses de N aplicadas e as diferentes formas e épocas de aplicação do bioestimulante, maiores acúmulos foram promovidos pelos tratamentos com ou sem associações nas formas de aplicação.

Comportamento contrario foi observado para o acúmulo de Zn, onde as maiores médias foram proporcionadas nos tratamentos TS e V4 em todas as doses de N, porém o tratamento V4, nas maiores doses aplicadas em cobertura, promoveu decréscimos, e o tratamento V4+R5 obteve acréscimos até a maior dose de N aplicada.

Tabela 75. Quantidade acumulada de micronutrientes (Cu, Zn, Mn e B), na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Cu		Zn		Mn		B	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(mg kg^{-1})							
Testemunha	12,6c	42,3b	43,4c	93,8a	123,4b	171,3a	125,4a	96,2a
TS	19,2a	24,9b	71,7a	79,5a	167,1ab	164,0a	133,3a	86,6ab
V4	13,8bc	24,3b	65,4ab	85,8a	127,2b	171,4a	154,4a	91,1a
R5	17,3ab	137,2a	55,8bc	111,6a	146,6ab	164,8a	152,8a	83,0ab
TS+V4	5,7e	34,4b	45,1c	72,9a	158,9ab	187,6a	124,0a	94,0ab
TS+R5	10,6cd	43,2b	46,5c	76,2a	174,6ab	189,8a	132,7a	80,6a
V4+R5	13,8bc	82,4ab	51,7bc	73,6a	146,8ab	162,4a	135,7a	60,7ab
TS+V4+R5	7,9de	71,2ab	44,7c	72,6a	182,9a	178,1a	126,4a	53,3b
DMS	4,3	92,7	15,2	50,4	53,9	104,8	34,86	34,9
CV (%)	28,7	35,9	24,1	51,0	29,6	51,0	21,7	38,6
N em cobert. (kgha^{-1})								
0	8,7	51,4	37,9	63,5	108,7	148,3	100,6	79,4
45	12,8	67,9	57,5	89,2	159,2	175,4	138,6	77,2
90	13,6	58,5	53,9	84,1	147,8	184,6	149,7	74,6
180	15,3	52,2	62,7	96,5	198,3	186,4	153,4	91,7
Efeito	L$^{(1)}$	ns	L$^{(2)}$	L$^{(3)}$	L$^{(4)}$	L$^{(5)}$	L$^{(6)}$	ns
CV (%)	24,3	46,7	22,5	37,0	29,7	41,2	16,5	33,9
Interação B x N	20,1**	2,5^{ns}	25,6**	1,8^{ns}	4,0**	0,8^{ns}	1,0^{ns}	0,9^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y = 10,2+0,03x$ $R^2=0,83$**; $^{(2)}y = 44,0+0,1x$ $R^2=0,68$**; $^{(3)}y = 71,3+0,1x$ $R^2=0,68$**; $^{(4)}y = 118,8+0,4x$ $R^2=0,84$**; $^{(5)}y = 158,8+0,2x$ $R^2=0,68$*; $^{(6)}y = 115,0+0,26x$ $R^2=0,69$**.

Para o acúmulo de Mn, significância foi observada somente quando foram aplicados 45 e 180 kg ha^{-1} de N e a maior média alcançada ocorreu nos tratamentos TS+R5 e TS+V4+R5, respectivamente. Segundo Fernandes et al. (2007) o Mn está relacionado à formação da lignina, presente na parede celular, à qual confere menor permeabilidade, exercendo assim, efeito significativo sobre a capacidade e a velocidade de

absorção de água através do tegumento das sementes. Além disso, esse elemento tem importantes funções na planta, destacando-se na participação da fotossíntese e no metabolismo do N e, também, nos compostos cíclicos como precursor de aminoácidos aromáticos, hormônios, fenóis e ligninas (HEENAN; CAMPBELL, 1980), talvez a maior dose de N tenha permitido quantificar seu maior acúmulo por participar de atividades metabólicas diretamente relacionadas ao N aplicado em cobertura.

Muitas podem ser as razões para a variação nos teores e quantidades acumuladas dos micronutrientes. Pode ter ocorrido a inibição competitiva que ocorre quando dois elementos competem pelo mesmo sítio do carregador, diminuindo a absorção do nutriente que está em menor concentração, por exemplo, entre o Zn e Ca.

O Cu tem sua absorção diminuída quando em presença de Ca, dessa forma esse último impede a absorção exagerada do micronutriente em questão. Assim como é comum associar a deficiência de Zn aos altos níveis de P no solo dessa forma a explicação seria a interação P/Zn na raiz e/ou nos vasos condutores, reduzindo a translocação de Zn para a parte aérea, ou ainda uma desordem metabólica causada pela desbalanceamento entre os dois nutrientes. No presente trabalho pode-se observar, no estádio V_4 na safra “das águas”, que ocorreu um acréscimo nos teores de quantidades acumuladas de P ao mesmo tempo em que decréscimos foram observados para os teores de Zn.

Interação antagônica entre MgxMn-Zn-Cu é bastante conhecida, porém para Boaro et al. (1999) poucos trabalhos focalizam as interações entre o magnésio e os micronutrientes em leguminosas do gênero *Phaseolus*. Segundo esses mesmos autores a variação entre os tipos de interações são comuns, sendo sinérgica ou antagônica, em diferentes trabalhos. Em seu trabalho, Boaro et al. (1999) encontraram concentrações de magnésio e manganês nas raízes variando sempre de modo oposto, sugerindo uma relação inversa na absorção desses elementos. Os resultados demonstraram pequena influência da variação dos níveis de magnésio sobre os micronutrientes que, no entanto, podem vir a alterar o comportamento da planta.

Tabela 76. Quantidade acumulada de Cu, Zn e Mn na parte aérea do feijoeiro, no estádio R_6, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		Cu (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	4,8cd	18,8b	11,6bc	15,4bc	ns
TS	11,3bc	15,8bc	30,2a	19,4b	$y = 9,45+0,3x-0,001x^2$ $R^2=0,77^{**}$
V4	3,7d	11,8bcd	10,1c	29,7a	$y = 2,99+0,14x$ $R^2=0,89^{**}$
R5	15,2ab	29,3a	11,1bc	13,6bcd	ns
TS+V4	4,2d	4,9de	7,1c	6,7d	ns
TS+R5	2,4d	4,0e	18,1b	17,9bc	$y = 3,05+0,09x$ $R^2=0,74^{**}$
V4+R5	21,2a	9,9cde	12,2bc	11,8cd	ns
TS+V4+R5	7,3cd	7,9de	8,6c	8,0d	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 7,0					
		Zn (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	32,4ab	49,3bc	43,9abc	48,1b	ns
TS	42,1ab	75,5ab	75,2a	93,9a	$y = 51,7+0,2x$ $R^2=0,82^{**}$
V4	53,8a	77,1a	69,4ab	61,2b	$y = 56,5+0,4x-0,002x^2$ $R^2=0,70^{*}$
R5	47,2ab	66,7abc	59,0abc	50,2b	$y = 49,6+0,3x-0,002x^2$ $R^2=0,70^{*}$
TS+V4	28,2ab	49,6bc	36,7c	65,4b	ns
TS+R5	25,3b	50,4bc	44,6bc	65,5b	ns
V4+R5	37,1ab	47,1c	58,9abc	63,6b	$y = 40,1+0,1x$ $R^2=0,88^{*}$
TS+V4+R5	36,9ab	44,0c	43,9bc	53,9b	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 26,7					
		Mn (g ha^{-1}) - Águas			
Testemunha	112,1a	112,4c	134,1a	135,0cd	ns
TS	112,9a	216,9ab	135,7a	203,5bcd	ns
V4	115,5a	131,8abc	146,6a	115,5d	ns
R5	116,1a	120,4bc	181,0a	168,8bcd	ns
TS+V4	102,3a	189,3abc	104,6a	239,9ab	ns
TS+R5	79,5a	223,1a	171,7a	224,2bc	ns
V4+R5	123,3a	100,6c	193,4a	170,0bcd	ns
TS+V4+R5	108,5a	178,7abc	115,2a	329,6a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 99,9					

Médias seguidas da mesma letra na coluna e linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

A relação entre os micronutrientes com Ca e Mg no solo também foram relatados por Malavolta et al. (1997) os quais podem diminuir ou aumentar a absorção através dos processos de antagonismo, de inibição competitiva, de inibição não competitiva e do sinergismo de alguns elementos; isso ocorre pois o Ca, o Mg e o Mn apresentam valência, raio iônico e grau de hidratação semelhantes, ou seja, o aumento da concentração de um inibe a absorção do outro. Nesse trabalho, apesar dos relatos anteriormente citados, teores de Mg decresceram no estádio R_5 na safra "das águas", assim como dos micronutrientes Zn e Mn, ao passo que os teores de Cu foram incrementados.

Quanto à diagnose foliar (Tabela 77), na safra "das águas", a aplicação de bioestimulante influenciou o teor de N e K, e médias superiores foram promovidas nos tratamentos (ou pelo menos um deles) com aplicação do bioestimulante TS+V4, V4+R5 e TS+V4+R5, porém, sem diferir da testemunha, no caso do K. Na safra "da seca" não ocorreu influência da aplicação do bioestimulante nos teores de N, P e K.

As doses de N em cobertura incrementaram apenas o teor de N, na safra "da seca" (Tabela 77). Resultados que contradizem Marschner (1995), ele explica que com o aumento no teor de N e fotoassimilados, existe uma tendência de incremento no teor de K, já que ele participa no transporte dos produtos no sentido fonte-dreno. Ferreira et al. (2001) observaram que os teores de P e K foram incrementados na cultura do milho quando aplicaram 0, 70, 140 e 210 kg ha^{-1} de N.

A interação BxN interferiu significativamente nos teores de N, P e K nas safra "das águas" (Tabela 77). Mediante desdobramento, observa-se que na dose de 45 kg ha^{-1} de N o tratamento TS+V4+R5 proporcionou teor de N maior que a testemunha e os tratamentos TS, V4 e R5, já na presença da doses de 90 kg ha^{-1} de N em cobertura, os tratamentos V4+R5 e TS+V4+R5 apresentaram os maiores valores, porém, diferindo apenas do tratamento TS+R5 (Tabela 78).

Tabela 77. Diagnose foliar (N, P e K) do feijoeiro, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Tratamento	N		P		K	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^{-1})					
Testemunha	37,3bc	46,0a	2,0a	2,8a	31,9a	13,8a
TS	36,3c	46,9a	2,7a	2,4a	30,9ab	15,1a
V4	37,5bc	44,5a	1,7a	2,7a	26,7bc	13,5a
R5	37,4bc	44,8a	1,6a	2,9a	22,3c	14,0a
TS+V4	39,1bc	42,6a	1,8a	2,9a	26,3bc	15,3a
TS+R5	36,9c	45,2a	1,8a	2,9a	28,3ab	14,6a
V4+R5	44,4ab	46,1a	1,9a	2,9a	32,8a	14,5a
TS+V4+R5	44,7a	48,3a	2,2a	2,6a	31,8a	15,5a
DMS	5,19	6,1	1,22	0,9	4,60	3,5
CV (%)	11,2	11,4	52,6	28,1	13,4	20,3
N em cobert. (kg ha^{-1})						
0	39,1	41,3	2,2	2,6	28,7	14,8
45	39,2	45,3	1,9	2,8	27,8	14,6
90	39,0	46,1	1,9	2,8	31,1	14,2
180	38,6	49,4	1,8	2,8	27,8	14,5
Efeito	ns	L$^{(1)}$	ns	ns	ns	ns
CV (%)	11,1	11,9	52,5	23,3	16,1	ns
Interação B x N	3,9*	1,0^{ns}	4,2*	0,9^{ns}	1,9*	1,2^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y = 42,24-0,041x \quad R^2=0,93*$.

Tabela 78. Diagnose foliar (N) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	N (g kg^{-1}) - Águas				
Testemunha	38,1a	35,0b	38,6ab	37,5a	ns
TS	35,3a	36,6b	38,0ab	37,5a	ns
V4	37,8a	36,8b	37,9ab	37,5a	ns
R5	36,4a	38,5ab	38,5ab	36,0a	ns
TS+V4	38,9a	40,6ab	39,1ab	37,9a	ns
TS+R5	38,1a	39,6ab	31,9b	38,0a	ns
V4+R5	44,2a	38,6ab	43,7a	43,2a	ns
TS+V4+R5	43,7a	47,9a	43,9a	43,4a	ns

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 9,5

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Quanto ao teor de P nas folhas, na safra “das águas”, observando interação entre bioestimulante e N, na ausência de N em cobertura, o tratamento TS promoveu a maior valor, porém, foi o único tratamento que teve sua concentração reduzida com o aumento das doses de N aplicadas (Tabela 79). Comportamento semelhante ao que foi observado na avaliação nutricional da parte aérea (Tabelas 24 e 26). Nas doses 0, 45 e 180 kg ha^{-1} de N, foram encontrados resultados significativos para o teor K, e quando não foi aplicado o N em cobertura, os tratamentos TS+V4+R5 proporcionou a maior média e esta foi semelhante às médias encontradas quando se aplicou 90 e 180 kg ha^{-1} de N; os maiores valores encontrados na dose de 45 kg ha^{-1}, foram promovidas pelos tratamentos TS, V4+R5 e TS+V4+R5, e na maior dose aplicada os tratamentos TS e R5 promoveram decréscimos que pode ter sido devido ao desarranjo metabólico causado pelo excesso de N.

Tabela 79. Diagnose foliar (P e K) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		P (g kg^{-1}) - Águas			
Testemunha	1,9b	2,3a	1,9a	1,9a	ns
TS	4,8a	2,1a	1,9a	1,9a	$y = 3,72-0,01x$ $R^2=0,51$*
V4	1,9 b	1,8a	1,8a	1,4a	ns
R5	1,6 b	1,5a	1,7a	1,5a	ns
TS+V4	1,9 b	1,6a	1,8a	1,9a	ns
TS+R5	1,8 b	1,8a	1,8a	1,7a	ns
V4+R5	1,9 b	1,6a	1,9a	2,1a	ns
TS+V4+R5	2,0 b	2,1a	2,4a	2,4a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 2,3					
		K (g kg^{-1}) – Águas			
Testemunha	30,4abc	29,9ab	34,1a	33,4ab	ns
TS	34,4ab	33,3a	31,6a	24,1bc	$y = 35,5-0,06x$ $R^2=0,94$*
V4	24,5c	19,7c	34,0a	28,6abc	ns
R5	21,2c	22,4bc	26,8a	18,9c	$y = 20,5+0,1x-0,0007x^2$ $R^2=0,81$*
TS+V4	24,8bc	24,3abc	31,0a	25,3abc	ns
TS+R5	29,0abc	27,4abc	29,0a	28,1abc	ns
V4+R5	30,7abc	32,8a	32,9a	34,7a	ns
TS+V4+R5	34,9a	33,0a	29,6a	29,7ab	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 9,8					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Com relação ao N, em todos os tratamentos, nas duas safras (Tabelas 77 e 78), os teores encontravam-se dentro da faixa considerada adequada por Ambrosano et al. (1996) e Malavolta et al. (1997). Com relação ao P e ao K, os teores foram bastantes variáveis.

Na safra "das águas", somente o Ca e Mg foram influenciados pela aplicação do bioestimulante, sendo que os tratamentos TS+V4, V4+R5 e TS+V4+R5 para o

Ca e TS+V4+R5 para o Mg promoveram os maiores teores desses nutrientes (Tabela 79). Para os dois nutrientes o tratamento testemunha e o tratamento TS apresentaram as menores médias. Na safra “da seca” somente o S foi influenciado pela aplicação do bioestimulante e a pulverização realizada no estádio R5, assim como o tratamento de sementes associado a pulverização no estádio V4 promoveram os maiores teores. Na safra “da seca” a aplicação do bioestimulante influenciou somente os teores de S e nos tratamentos R5 e TS+V4 foram observadas as maiores médias.

Na safra “das águas”, as diferentes doses de N aplicadas em cobertura influenciaram os teores de Ca que obteve aumentos quandráticos até a dose estimada de 111,1 kg ha^{-1} de N (Tabela 79). Quantidades superiores a 100 kg ha^{-1} são citadas como requeridas para garantir a extração de nutrientes associada às altas produções (Oliveira et al. 1996), neste sentido, alguns autores têm obtido respostas lineares a aplicações de N iguais ou superiores a 100 kg ha^{-1}, como Teixeira et al. (2008), que observaram que doses de N afetaram os teores de N, Ca, Mg e Mn no feijoeiro, representados por acréscimo no teor de N até 62 kg ha^{-1} de N aplicados em cobertura, decréscimo nos teores de Ca, aumento linear do teor de Mg à medida que as doses de N foram aumentadas e acréscimo no teor de Mn na dose estimada de 150 kg ha^{-1} de N que foi aproximadamente 57% maior que a testemunha.

As diferentes doses de N aplicadas em cobertura também afetaram os teores de Mg tanto nas safras “das águas” quanto “da seca”, e proporcionaram aumento linear até as maiores doses de N (180 kg ha^{-1}) e um decréscimo à medida que aumentou a dose de N, respectivamente (Tabela 79). Ferreira et al. (2001) também encontraram resultados significativos para o teor de Mg na cultura do milho, além desse nutriente, o teor de Ca também foi influenciado pelas diferentes doses de N, eles relataram que mesmo esse nutriente sendo quase imóvel no floema dos vegetais, o seu teor foi incrementado quando aplicaram até 210 kg ha^{-1} de N e que isso pode ter ocorrido pela necessidade do Ca para a formação da parede celular com o objetivo de suprir a demanda de metabólitos produzidos em consequência da adubação nitrogenada. Para o teor de S, os mesmos autores encontraram o ponto de máximo acima da maior dose de N utilizada (210 kg ha^{-1}).

Tabela 79. Diagnose foliar (Ca, Mg e S) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas" e "da seca".

Tratamento	Ca		Mg		S	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(g kg^{-1})					
Testemunha	8,6d	10,4a	6,0e	7,2a	1,8a	1,8b
TS	9,0d	10,8a	6,7de	5,0a	2,0a	1,5b
V4	10,0cd	9,1a	7,3cd	4,3a	1,6a	1,7b
R5	11,3bc	9,9a	6,8de	4,8a	1,7a	2,5a
TS+V4	14,1a	11,1a	8,1abc	4,8a	1,6a	2,4a
TS+R5	12,3ab	10,9a	7,9bc	4,9a	1,7a	1,9ab
V4+R5	13,9a	10,0a	8,8ab	4,8a	1,4a	1,7b
TS+V4+R5	13,5a	11,2a	9,1a	5,0a	1,8a	1,7b
DMS	1,8	2,5	1,1	3,6	0,6	0,6
CV (%)	13,3	20,0	10,2	59,8	30,9	27,1
N em cobert. (kg ha^{-1})						
0	11,1	9,8	7,2	4,0	1,6	1,9
45	11,2	10,8	7,7	5,0	1,7	1,9
90	12,4	10,4	7,7	6,2	1,8	1,9
180	11,7	10,8	7,7	5,1	1,8	1,9
Efeito	Q$^{(1)}$	ns	L$^{(2)}$	Q$^{(3)}$	ns	ns
CV (%)	13,9	18,3	10,9	64,4	30,7	15,7
Interação B x N	0,8^{ns}	1,3^{ns}	1,6*	0,9^{ns}	0,8^{ns}	0,6^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em dada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y=10,9+0,2x-0,0009x^2$ $R^2=0,61$*; $^{(2)}y=7,39+0,002x$ $R^2=0,55$*; $^{(3)}y=3,9+0,02x-0,0002x^2$ $R^2=0,94$*.

Para os teores de Mg, na safra "das águas", mediante o desdobramento (Tabela 80) verifica-se que nos tratamentos com aplicação do bioestimulante em V4+R5 e TS+V4+R5, proporcionaram os maiores valores, especialmente em relação à testemunha. Já as doses de N em cobertura proporcionaram incremento no teor de Mg foliar apenas na presença da aplicação do bioestimulante em V4+R5.

Tabela 80. Diagnose foliar (Mg) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão	
	0	45	90	180		
	Mg (g kg^{-1}) - Águas					
Testemunha	5,9b	6,0c	5,9c	6,0c	ns	
TS	6,6ab	7,0bc	6,5c	6,5bc	ns	
V4	6,7ab	7,6bc	7,6abc	7,3bc	ns	
R5	6,7ab	7,0bc	7,2bc	6,2c	ns	
TS+V4	7,3ab	7,8bc	8,7ab	8,4ab	ns	
TS+R5	8,4a	7,8bc	7,3abc	8,3ab	ns	
V4+R5	7,8a	8,4ab	9,2a	9,7a	y=7,94+0,01x	R^2=0,92*
TS+V4+R5	8,1a	9,9a	8,8ab	9,6a	ns	

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,87

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Na safra "das águas" o teor de Cu, Zn, Mn e B foram influenciados pelas diferentes formas e épocas de aplicação do bioestimulante e os tratamentos TS+V4+R5 para o Cu, V4+R5 e TS+V4+R5 para o Zn, TS+V4+R5 para o Mn e V4+R5 para o B, promoveram as maiores médias (Tabela 81). Já na safra "da seca", somente no teor de B observou-se essa influência e o tratamento TS+R5 promoveu uma maior média nessa variável.

Em relação às doses de N, na safra "das águas", no teor de Cu observou-se um decréscimento na medida que se aplicou as maiores doses de N, já para o Mn um acréscimo linear foi observado até a dose de 180 kg ha^{-1} (Tabela 81). Na safra "da seca", diferentes doses de N promoveram incremento linear no teor de Zn. Ferreira et al. (2001) encontraram efeitos positivos das diferentes doses de N sobre teores de Cu, Zn e Mn na cultura do milho, eles ainda explicam que isso pode ter ocorrido devido a uma possível acidificação proporcionada pela adubação nitrogenada, e consequente acidificação da rizosfera causada pela nitrificação ou absorção do íon amônio e dessa forma o aumento da disponibilidade dos referidos micronutrientes. Os mesmos autores observaram incrementos de 144,5%, 30,6% e 66,4% para Cu, Zn e Mn, respectivamente. Teixeira et al. (2010) observaram

que na maior dose de N aplicada (60 kg ha^{-1}) foi enontrado o maior teor de Mn no feijoeiro. Hiraki et al. (2009) encontraram resultados significativos para os teores de Cu no algodão, e nas maiores doses de N aplicadas foram observados os maiores teores desse micronutriente.

Tabela 81. Diagnose foliar (Cu, Zn, Mn e B) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas" e "da seca".

Tratamento	Cu		Zn		Mn		B	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(mg kg^{-1})							
Testemunha	5,2c	38,9a	28,6c	47,1a	133,5ab	98,9a	28,9b	28,1bc
TS	4,4c	24,2a	33,0cd	45,0a	149,9ab	109,4a	34,7b	27,7c
V4	10,9b	20,2a	40,7abc	37,1a	133,9ab	96,6a	37,4b	29,1bc
R5	5,4c	24,0a	35,5bcd	40,9a	118,4b	100,6a	40,2b	53,7abc
TS+V4	5,6c	13,5a	40,1abc	37,7a	129,4ab	103,9a	56,2b	51,3abc
TS+R5	6,4c	35,6a	45,6ab	51,7a	137,2ab	103,4a	68,7ab	76,7a
V4+R5	11,9b	16,4a	47,0a	40,2a	182,6ab	93,6a	77,7a	52,4abc
TS+V4+R5	24,9a	12,6a	49,9a	38,4a	193,1a	99,6a	70,2ab	56,9ab
DMS	3,55	38,1	10,36	19,1	68,42	25,7	15,12	28,8
CV (%)	32,1	38,4	20,8	38,2	39,2	21,5	24,6	51,7
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	6,7	24,2	39,5	37,2	143,6	87,7	52,2	47,1
45	10,4	25,1	40,3	43,4	142,4	100,5	50,4	46,7
90	10,8	21,3	39,8	43,4	165,4	106,2	48,4	46,4
180	9,4	22,1	40,6	45,1	137,6	108,1	56,0	47,7
Efeito	$Q^{(1)}$	ns	ns	$L^{(2)}$	ns	$L^{(3)}$	ns	ns
CV (%)	32,73	47,7	20,6	20,9	43,1	26,1	31,8	25,7
Interação B x N	12,1**	$0,6^{ns}$	2,1*	$1,0^{ns}$	$0,5^{ns}$	$0,6^{ns}$	1,6*	1,6*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em dada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y=6,9+0,08x-0,004x^2$ $R^2=0,94$*; $^{(2)}y=39,4+0,04x$ $R^2=0,67$*; $^{(3)}y=92,5+0,1x$ $R^2=0,74$*.

Mediante desdobramento da interação, na safra "das águas", verifica-se que o teor de Cu foi incrementado em todas as doses de N quando associações de

tratamentos com o bioestimulante foram utilizadas, porém apesar de no tratamento V4 ter havido incremento na maior dose de N aplicada em cobertura, os tratamentos V4+R5 e TS+V4+R5 promoveram decréscimos na mesma dose (Tabela 82).

Tabela 82. Diagnose foliar (Cu e Zn) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "das águas".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha-1)				Regressão
	0	45	90	180	
			Cu (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	3,2c	5,5b	7,5bc	4,5b	ns
TS	4,5bc	5,5b	4,0c	3,5b	ns
V4	10,0b	5,5b	9,5bc	18,4a	$y = 9,3-0,08x+0,0007x^2$ $R^2=0,94$**
R5	3,5bc	5,5b	6,5c	6,0b	ns
TS+V4	5,5bc	4,5b	4,0c	8,5b	ns
TS+R5	6,0bc	4,5b	6,0c	9,0b	ns
V4+R5	3,6bc	26,5a	13,5b	4,0b	$y = 7,0+0,3x-0,002x^2$ $R^2=0,60$**
TS+V4+R5	17,0a	26,0a	35,5a	21,0a	$y = 16,0+0,4x-0,002x^2$ $R^2=0,94$**
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 6,7					
			Zn (mg kg^{-1}) - Águas		
Testemunha	17,5b	32,5b	29,0c	35,5a	$y = 22,2+0,08x$ $R^2=0,63$*
TS	35,0ab	33,5ab	30,0bc	33,0a	ns
V4	39,0a	34,0ab	46,0abc	38,0a	ns
R5	36,5a	36,7ab	33,5abc	35,5a	ns
TS+V4	42,5a	40,0ab	38,0abc	46,5a	ns
TS+R5	48,0a	45,5ab	38,0abc	39,5a	ns
V4+R5	47,0a	49,0ab	47,5ab	48,0a	ns
TS+V4+R5	50,5a	51,5a	48,5a	49,0a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 18,4					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Apesar de nos teores de Cu, Zn e Mn, ter havido diferença significativa somente na dose de 45 kg ha^{-1}, nas doses 0 e 180 kg ha^{-1}, ou não ter havido

diferença significativa, respectivamente; a associação entre as formas de aplicação do bioestimulante, da mesma forma, proporcionaram as maiores médias na safra “das águas” (Tabela 82). Para os teores de B, nesses mesmos tratamentos com o bioestimulante citados anteriormente, para todos os outros macros e micronutrientes (associação das formas de aplicação do bioestimulante) foram encontradas os maiores teores na safra “das águas”. Na safra “da seca” teores superiores foram observados no tratamento TS+R5 (Tabela 83).

Tabela 83. Diagnose foliar (B) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante (Stimulate®) e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “das águas” e “da seca”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
		B (mg kg^{-1}) - Águas			
Testemunha	25,1c	34,2c	22,6cd	33,8c	ns
TS	38,4bc	30,0c	26,4cd	44,0abc	ns
V4	52,4bc	40,6bc	14,1d	42,6abc	ns
R5	35,0c	39,8bc	45,5bcd	40,5bc	ns
TS+V4	50,2bc	45,5abc	53,2abc	75,7a	ns
TS+R5	69,3ab	77,3a	64,5abc	63,6abc	ns
V4+R5	90,6a	61,9abc	83,1a	75,2a	ns
TS+V4+R5	56,4abc	74,0abc	77,9ab	72,3ab	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 34,3					
		B (mg kg^{-1}) - Seca			
Testemunha	31,1a	32,1b	24,6b	24,6c	ns
TS	30,6a	29,5b	27,1b	23,7c	ns
V4	28,8a	29,7b	28,0b	30,1bc	ns
R5	48,7a	53,8b	58,1ab	54,3abc	ns
TS+V4	56,4a	58,8ab	38,1b	52,1abc	ns
TS+R5	63,9a	83,8a	80,7a	78,2a	ns
V4+R5	59,8a	31,0b	56,4ab	62,4ab	ns
TS+V4+R5	57,9a	55,3ab	58,6ab	55,8abc	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 35,7					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

O uso da diagnose foliar, ou seja, da avaliação do estado nutricional das culturas, constitui uma ferramenta indispensável para atingir alta produtividade. Um dos

principais métodos para avaliar o estado nutricional das culturas é a análise química de folhas. Com a interpretação da análise química de folhas é possível emitir um parecer indicando possível deficiência ou excesso de nutrientes e contribuindo para estabelecimento de programas de adubação com maior eficiência agronômica e econômica. No presente trabalho, todos os nutrientes estavam dentro da faixa considerada normal para Ambrosano et al. (1996) e Malavolta et al. (1997).

Não foram encontrados efeitos estatísticos do bioestimulante sobre a população final de plantas, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e massa de 100 grãos, tanto na safra “das águas” quanto “da seca” (Tabela 84). O contrário foi observado por Bertolin et al. (2010) que observaram incrementos no número de vagens por planta de soja quando aplicaram o mesmo bioestimulante e ainda relataram que a aplicação na fase reprodutiva foi 24% superior àquela realizada na fase vegetativa. Oliveira et al. (1998) quando avaliaram aplicação do bioestimulante na cultura do feijão em diferentes épocas, associadas ou não ao tratamento de sementes, observaram que somente o tratamento de sementes promoveu aumento no número de vagens por planta.

Shu-Qing et al. (2004) explicam que as citocininas têm papel importante no desenvolvimento da planta e seu comportamento diante das questões ambientais, como senescência foliar, dominância apical, desenvolvimento dos cloroplastos, produção de antocianina e divisão celular; eles ainda explicam que quanto mais citocinina maior eficiência no sistema e maior atividade radicular, portanto maior seria a eficiência na produção e enchimento dos grãos (quando a planta necessita de uma maior atividade radicular para melhorar absorção e ter qualidade das vagens). Xie et al. (2004) explicam que a citocinina, tanto na produção como enchimento dos grãos, tem importante papel no transporte e distribuição dos assimilados, assim como no metabolismo, ou seja, auxiliam, por exemplo, o metabolismo do N que tem papel importante no teor de proteínas nos grãos e consequentemente na sua qualidade. Esses mesmos autores explicam que até a citocinina exógena serve como moduladora para determinar uma taxa específica que limita, ou promove, os componentes do metabolismo dos fotoassimilados.

Tabela 84. População final de plantas, número de vagens por planta, número de grãos por vagem, massa média de 100 grãos do feijoeiro, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Tratamento	População final de plantas		Nº de vagens por planta		Nº de grãos por vagem		Massa de 100 grãos	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(mil plantas ha^{-1})		(nº $planta^{-1}$)		(nº $planta^{-1}$)		(g)	
Testemunha	227a	289a	13,5a	7,5a	4,4a	4,6a	24,6a	28,7a
TS	237a	280a	12,8a	7,9a	4,3a	4,8a	24,9a	28,7a
V4	226a	283a	13,2a	6,6a	4,3a	4,5a	23,9a	28,7a
R5	228a	286a	12,4a	7,7a	4,2a	4,5a	25,1a	28,7a
TS+V4	229a	279a	12,3a	7,4a	4,2a	4,7a	25,0a	28,7a
TS+R5	234a	285a	11,9a	7,4a	4,1a	4,4a	24,5a	29,0a
V4+R5	221a	282a	11,5a	7,2a	4,3a	4,8a	24,3a	28,1a
TS+V4+R5	236a	279a	12,2a	7,6a	4,2a	4,3a	24,8a	28,3a
DMS	27,8	41,1	2,9	2,5	0,4	1,0	1,4	1,2
CV (%)	10,2	12,2	20,1	28,3	7,4	18,7	4,7	3,6
N em cobert. ($kg\ ha^{-1}$)								
0	234	280	10,2	7,3	4,2	4,8	24,8	28,9
45	228	284	12,2	7,1	4,3	4,5	24,6	28,9
90	227	283	13,0	7,1	4,3	4,5	24,6	28,7
180	230	284	15,5	8,1	4,3	4,5	24,6	28,0
Efeito	ns	ns	$L^{(1)}$	$L^{(2)}$	ns	ns	ns	$L^{(3)}$
CV (%)	9,3	11,6	14,9	19,7	9,9	16,3	6,2	3,6
Interação B x N	$0,7^{ns}$	$0,3^{ns}$	$1,7^{ns}$	$1,4^{ns}$	$0,4^{ns}$	$1,4^{ns}$	$0,9^{ns}$	$1,3^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y=10,7+0,2x\ \ R^2=0,93^{**}$; $^{(2)}y=7,0+0,005x\ \ R^2=0,62^{*}$; $^{(3)}y=29,0+0,005x\ \ R^2=0,89^{**}$.

Yang et al. (2000a) também citaram a importância da citocinina na produção e enchimento dos grãos, pois como a citocinina influencia na direção e intensidade dos fotoassimilados, no momento do enchimento dos grãos, esses seriam transportados para esse dreno. Eles ainda explicam que a associação entre citocinina, auxina e giberelina incrementaria o enchimento dos grãos, e que a citocinina presente no início do

desenvolvimento dos grãos tem um importante papel na regulação da partição dos assimilados e, portanto, influencia na percentagem do enchimento dos grãos. Apesar desse reconhecido efeito da citocinina tanto no enchimento, quanto no teor de proteínas nos grãos, essas variáveis não foram afetadas pela aplicação do bioestimulante (que tem em sua formulação a cinetina).

Não foram verificados efeitos significativos das diferentes doses de N para a população final de plantas, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos (Tabela 84). Em relação à população final de plantas, Binotti (2009) também não observou variação significativa na população final de plantas de feijoeiro comum com a aplicação de N, já Del Peloso et al. (1996) e Fancelli; Dourado Neto (2007) observaram populações de plantas superiores aos valores mínimos recomendados para o feijoeiro comum. Segundo Kaneko et al. (2010), o estabelecimento da população de plantas depende preponderantemente das reservas da semente, da umidade adequada do solo, do baixo impedimento da camada de solo que as cobrem e da ausência de ataque de patógenos e pragas de solo na fase inicial da cultura.

O número de grãos por vagem é uma característica de alta herdabilidade genética e, portanto, relacionada com o cultivar utilizada no experimento (Ferreira et al., 2000), dessa forma, resultados diferenciados foram encontrados por autores como Binotti et al. (2005) que verificaram que a época de aplicação do N influenciou o número de grãos por planta, onde a aplicação da dose total (75 kg ha^{-1} de N) na semeadura proporcionou em média o maior número de grãos por planta, Binotti (2009) não verificou diferenças significativas para o número de grãos por vagem, Silva (2002) e Soratto et al. (2004) também não obtiveram efeitos significativos no número de grãos por vagem com a utilização de diferentes níveis de N em cobertura. Embora o número de grãos por vagem seja considerado característica de herdabilidade genética, resultados de trabalhos de pesquisa indicam que uma melhor nutrição em N pode aumentar o número de óvulos fertilizados por vagem (SANTOS et al., 2003; ARF et al., 2004; SORATTO et al., 2006).

Para a massa de 100 grãos, os resultados corroboram os obtidos por Soratto et al. (2000), Teixeira et al. (2000) e Teixeira et al. (2005) que obtiveram aumento na massa de 100 grãos do feijoeiro com aplicação de N. Segundo Silva; Silveira (2000) e Soratto et al. (2004), doses de N não causam grande variação na massa de 100 grãos já que essa é uma das características que apresenta pequena variação, em função das alterações no meio de

cultivo. Assim, em condições adversas, com restrição de N, a planta de feijão preferencialmente formará poucos grãos nas vagens fixadas ao invés de vários e mal formados (SORATTO et al., 2005).

Efeito linear positivo das diferentes doses de N foi observado somente para o número de vagens na safra “das águas” e esse resultado indica que a maior disponibilidade de N na fase inicial do feijoeiro promoveu um melhor desempenho produtivo. Comportamento contrário foi observado para a massa de 100 grãos na safra “da seca”, e nas maiores doses de N foram encontrados os menores pesos (Tabela 85).

A deficiência de N reduz o crescimento do feijoeiro, o número de flores e, conseqüentemente, o número de vagens (PORTES et al., 1996). Soratto et al. (2005; 2006) também constataram aumento no número de vagens por planta do feijoeiro considerando a aplicação de N, Soratto et al. (2000) concluíram que a aplicação de diferentes doses de N afetou positivamente o número de vagens e de grãos por planta, o peso de 100 grãos e a produtividade de grãos, Silveira; Damasceno (1993) e Diniz (1995) obtiveram aumento no número de vagens por planta com a adubação nitrogenada. Segundo Silva et al. (2009) acréscimos de vagens por planta com o incremento de doses de N, aplicadas em cobertura, podem ocorrer devido à maior altura de plantas e/ou à maior emissão de ramos reprodutivos. Silva (2010) observou em cultivares de feijão, Pérola e Juriti, aumentos lineares no número de vagens por planta, com o acréscimo na dose de N em cobertura. Do mesmo modo, Carvalho et al. (2000) verificaram efeito linear crescente no número de vagens por planta até a dose de 140 kg ha^{-1}de N. Apesar do N afetar diretamente o metabolismo da planta e promover uma maior fertilização dos óvulos (ARF et al., 2004), variáveis como número de grãos por vagem sofre pouca influência ambiental por ser uma característica varietal (ANDRADE et al., 1998).

Mediante desdobramento da interação, na safra “da seca”, somente número de grãos por vagem e massa de 100 grãos foram influenciados e decréscimos foram obtidos nos tratamentos testemunha, TS e V4, respectivamente (Tabela 85).

Tabela 85. Número de grãos por vagem e massa média de 100 grãos do feijoeiro, em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	Nº de grãos por vagem ($nº\ vagem^{-1}$) - Seca				
Testemunha	5,3a	4,9a	4,2a	4,1a	$y=5,2+0,007x$ $R^2=0,84$*
TS	5,5a	4,2a	4,4a	4,9a	$y=5,5+0,02x+0,0001x^2$ $R^2=0,80$*
V4	4,5a	5,1a	4,6a	4,0a	ns
R5	4,9a	3,6a	4,7a	4,6a	ns
TS+V4	4,7a	4,3a	4,5a	5,3a	ns
TS+R5	4,6a	4,6a	4,3a	4,2a	ns
V4+R5	4,5a	4,9a	5,0a	4,7a	ns
TS+V4+R5	4,4a	4,6a	4,2a	4,2a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 1,7					
	Massa de 100 grãos (g) - Seca				
Testemunha	29,7a	28,6a	28,9a	27,4a	ns
TS	28,0a	29,6a	29,0a	28,1a	ns
V4	29,6a	29,1a	28,5a	27,4a	$y=29,6+0,01x$ $R^2=0,99$**
R5	29,3a	28,6a	29,1a	28,0a	ns
TS+V4	28,9a	29,6a	28,0a	28,5a	ns
TS+R5	29,2a	28,8a	28,8a	29,1a	ns
V4+R5	27,9a	28,4a	28,2a	28,1a	ns
TS+V4+R5	28,5a	28,3a	29,2a	27,2a	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 2,2					

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

A aplicação de bioestimulante não afetou significativamente a produtividade do feijoeiro e o teor de proteína bruta dos grãos nas safras "das águas" e "da seca" (Tabela 86). Na safra "das águas", apesar do resultado não comprovado estatisticamente para a produtividade dos grãos, o tratamento TS+V4+R5 promoveu a maior média e foi 6% superior à testemunha, na safra "da seca" maior valor médio foi observado no tratamento R5. Abrantes (2008), avaliando diferentes doses e épocas de aplicação do bioestimulante na cultura do feijão, observou que o número de vagens por planta, número de sementes por

vagem e produtividade dos grãos foram incrementados linearmente, e nas maiores doses utilizadas (1,5 e 2,0 L ha^{-1}) foram encontrados os maiores valores para essas variáveis, porém também não observaram efeitos do bioestimulante na massa de 100 grãos. Lana et al. (2009) não observaram efeitos da aplicação de bioestimulante sobre a massa de 100 grãos de feijão, porém observaram que a aplicação do mesmo regulador vegetal via sementes + via foliar 15 dias após emergência incrementou a produtividade em 325 kg ha^{-1}; quando aplicaram via foliar 15 dias após emergência + via foliar 30 dias após emergência + pré-florescimento observaram aumento na produtividade em 475 kg ha^{-1} de grãos no feijoeiro. Bertolin (2008) encontrou resultados significativos para número de vagens e produtividade quando aplicou o bioestimulante em soja, via tratamento de sementes ou pulverização foliar, obtendo incremento de até 30% e 59%, respectivamente, em relação à testemunha; já Cobucci; Wruck (2006) não encontraram resultados significativos no feijão para a população final, que foi semelhante em todos os tratamentos, mas o número de vagens foi incrementado quando aplicou esse produto nos estádios R5 e R7, assim como a produtividade que foi incrementada 30% em relação à testemunha. Ferreira et al. (2007) em milho não encontraram diferenças significativas no número de espigas e produtividade quando aplicou esse regulador vegetal nas sementes. Bertolin et al. (2008) não verificaram efeitos no teor de proteína e produtividade de grãos de soja quando aplicaram 15 diferentes tratamentos com o bioestimulante.

Doses de N aplicados em cobertura promoveram efeitos lineares para a produtividade dos grãos na safra “das águas” (Tabela 86). Doses crescente de N também promoveram incrementos lineares no teor de proteína bruta do grão na safra “da seca”. Silva et al. (2009) não detectaram diferença estatística significativa para a produtividade do feijoeiro comum cultivar IAPAR 81 com o incremento das doses de N em cobertura. Farinelli et al. (2006) avaliaram a aplicação de doses de N em cobertura na cultura do feijoeiro e verificaram ajuste quadrático para a produtividade de grãos sendo o maior valor alcançado com a aplicação de 78 kg ha^{-1} de N. Soratto et al. (2004) obteve efeito quadrático na produtividade de grãos de feijão devido à aplicação de N em cobertura, no entanto, a produtividade máxima foi alcançada com a dose estimada de 182 kg ha^{-1} de N que foi bem acima da maior dose utilizada no seu experimento. Soratto et al. (2005), Soratto et al. (2006) e Crusciol et al. (2007) também verificaram aumento da produtividade do feijão comum mediante a aplicação de N em cobertura. Segundo Pelegrin et al. (2009), a variabilidade nas respostas do feijoeiro às doses

de N, nos diferentes experimentos, tem sido verificada especialmente em função dos níveis de fertilidade do solo e outras técnicas empregadas nos sistemas produtivos, destacando-se o uso de sistemas de irrigação.

De acordo com Kluthcouski et al. (2005), solos sob cultivo contínuo, tendem, ao longo do tempo, a acumular nutrientes no perfil explorado pelas raízes tornando menos freqüente a resposta à adubação com macro e micronutrientes. Já, segundo Gomes Junior (2006), o feijoeiro em sistema de plantio direto, responde muito pouco a altas doses de N em cobertura quando há grande aporte de fitomassa sobre a superfície do solo; o mesmo autor não verificou efeito dos níveis de N sobre a produtividade do feijoeiro. Kikuti et al. (2005) observaram maiores produtividades do feijoeiro de inverno com doses de 170 kg ha^{-1} e 144 kg ha^{-1} de N em diferentes anos. Diniz et al. (1995) relataram que a planta responde em produtividade com a aplicação de doses maiores de 40 kg ha^{-1} de N na semeadura. Andrade, et al. (1998) verificaram que tanto a aplicação de N na semeadura como em cobertura, 20 dias após a emergência das plantas de feijão, proporcionaram incrementos na produtividade de grãos.

Em relação ao teor de proteína bruta dos grãos (Tabela 86), segundo Malavolta (1997), todos os aminoácidos e proteínas contêm N, assim, o aumento na disponibilidade e, consequentemente, na absorção de N pelas plantas, normalmente levam a um aumento no teor de proteínas (ARF, 1994). Destaca-se que a aplicação de N em cobertura não influenciou o teor ou acúmulo de N nas plantas de feijão em algumas situações (Tabelas 23, 25, 27 e 29) nem incrementou o teor de proteína bruta nos grãos, quando avaliado independentemente da aplicação do bioestimulante. Lemos et al. (2004) observaram diferença no teor de proteína dos grãos de diferentes genótipos de feijoeiro durante a safra das “águas” de dois anos agrícolas em São Manuel (SP). Guerra et al. (2000) não observaram variação significativa no teor de proteína bruta nos grãos, para a cultivar Peróla no período “de inverno”, em função da aplicação de N. Farinelli (2003) e Soratto et al. (2005) obtiveram elevação do teor de proteína nos grãos do feijoeiro cv. Pérola, com aplicação de doses crescentes de N em cobertura no estádio V_4. Na cultura do feijão, existem relatos de que o teor de proteína se correlaciona negativamente com a produtividade de grãos (SGARBIERI, 1987; BRESSANI, 1989; POMPEU, 1993), nas condições do presente trabalho isso não foi verificado. Diferenças entre as safras podem estar relacionadas com a maior precipitação

pluvial ocorrida durante os períodos em questão (Figura 1). Apesar da maior precipitação pluvial ocorrida na safra "da seca", que provavelmente teria ocasionado perda do N e alterações na qualidade fisiológica dos grãos de feijão, essa parece ter contribuído para a maior absorção do N.

Tabela 86. Produtividade de grãos e estimativa do teor de proteína bruta dos grãos do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras "das águas" e "da seca".

Tratamento	Produtividade de grãos		Teor de proteína nos grãos	
	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	——— (kg kg^{-1}) ———		——— (g kg^{-1}) ———	
Testemunha	2.675a	2.728a	254,0a	220,4a
TS	2.680a	2.629a	240,6a	220,2a
V4	2.510a	2.678a	248,8a	213,0a
R5	2.606a	2.744a	254,4a	217,1a
TS+V4	2.631a	2.600a	248,8a	217,7a
TS+R5	2.664a	2.716a	241,2a	200,1a
V4+R5	2.574a	2.701a	248,8a	207,1a
TS+V4+R5	2.828a	2.517a	242,4a	226,5a
DMS	479,1	427,0	26,18	35,9
CV (%)	13,5	13,5	8,9	14,1
N em cobert. (kg ha^{-1})				
0	2.165	2.765	252,6	203,5
45	2.629	2.635	249,3	208,7
90	2.777	2.655	241,2	206,1
180	3.015	2.601	243,3	242,8
Efeito	L$^{(1)}$	ns	ns	L$^{(2)}$
CV (%)	13,0	12,6	10,1	14,5
Interação B x N	1,1^{ns}	0,9^{ns}	0,6^{ns}	1,5*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, para o fator bioestimulante, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y = 2303,1+4,3x \quad R^2=0,87^{**}$; $^{(2)}y = 198,2+0,22x \quad R^2=0,81^{**}$.

Somente na safra “da seca” houve efeito significativo da interação para o teor de proteína bruta nos grãos (Tabela 87). Com o desdobramento, verifica-se que a dose de N recomendada para o feijoeiro (90 kg ha^{-1}) os tratamentos com bioestimulante em R5, TS+V4 e TS+V4+R5 promoveram os maiores teores de proteína bruta(Tabela 87).

Tabela 87. Teor de proteína bruta dos grãos do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra “da seca”.

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
	Teor de proteína dos grãos (g kg^{-1}) - Seca				
Testemunha	182,7a	209,8a	216,1ab	273,2a	y=182,1+0,5x R^2=0,97**
TS	213,9a	215,2a	209,8ab	241,7a	ns
V4	207,2a	200,6a	204,7ab	239,5a	ns
R5	194,0a	206,1a	229,0a	239,1a	y=196,8+0,2x R^2=0,91*
TS+V4	193,2a	211,7a	236,5a	229,2a	ns
TS+R5	212,2a	206,3a	150,3b	231,7a	y=221,6-1,2x+0,007x^2 R^2=0,71*
V4+R5	220,9a	192,7a	172,6ab	242,2a	y=223,3-1,1x+0,007x^2 R^2=0,98*
TS+V4+R5	204,3a	226,8a	229,5a	245,4a	ns

DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 68,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Em ambas as safras, verificou-se pequena influência da aplicação de bioestimulante na eficiência agronômica do N pela cultura do feijão (Tabela 88). Na safra “da seca”, pulverizações foliares com o bioestimulante no pré-florescimento parece ter contribuído para aumento desse valor, ou ainda precipitação pluvial no mês que antecedeu o estádio R_5 pode ter afetado a disponibilidade desse nutriente às plantas de feijão. Quando foram aplicadas as doses de 45, 90 e 180 kg ha^{-1} de N maiores valores na eficiência agronômica foram proporcionadas pelo tratamentos com bioestimulante em TS+V4+R5, TS+V4+R5 e TS+R5, respectivamente, na safra “das águas”. Já na safra “da seca”, os maiores valores da eficiência

agronômica do N foram proporcionadas pelos tratamentos com aplicação de bioestimulante em R5, V4 e TS+R5, respectivamente.

Tabela 88. Eficiência agronômica do N em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura (45, 90 e 180 kg ha^{-1}), em experimento de campo na safra "das águas" e "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})					
	45		90		180	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
	(kg ha de grãos / kg^{-1} de N aplicado)					
Testemunha	54,2	58,3	29,8	29,7	17,2	15,3
TS	60,3	56,3	30,6	30,1	17,0	13,5
V4	55,4	58,2	26,8	31,2	16,3	13,7
R5	55,9	63,0	32,3	28,0	16,4	15,2
TS+V4	58,8	59,1	30,7	26,5	16,3	14,4
TS+R5	54,4	56,1	31,3	30,7	17,7	16,0
V4+R5	57,8	62,0	28,4	28,9	16,0	15,5
TS+V4+R5	70,7	55,5	36,9	30,7	17,1	12,0

Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

Houve efeito do bioestimulante na percentagem de grãos retidos nas peneiras 16 e 15, na safra "das águas", e os maiores valores foram proporcionados pelo tratamento TS (Tabela 89). Na safra "da seca" o uso de bioestimulante em diferentes formas e épocas de aplicação não influenciou o tamanho dos grãos.

As doses de N aplicadas em cobertura promoveram efeitos quadráticos na quantidade de grãos retidos nas peneiras 16 e 15 e os valores máximos foram alcançados nas doses calculadas de 87,5 e 55,2 kg ha^{-1} de N, na safra "das águas" (Tabela 89). Incrementos lineares foram observados para a percentagem de grãos retidos nas peneiras 14 (safra "das águas" e "da seca") e 13 (safra "das águas").

Tabela 89. Classificação do tamanho dos grãos (peneiras 16, 15, 14 e 13) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Tratamento	Peneira 16		Peneira 15		Peneira 14		Peneira 13	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(%)							
Testemunha	0,04abc	0,5a	1,1b	2,5a	16,0a	35,4a	28,6a	27,5a
TS	0,08a	1,4a	2,0a	2,2a	16,2a	29,5a	30,7a	28,2a
V4	0,03bc	0,4a	0,9b	2,2a	13,9a	38,2a	27,1a	26,5a
R5	0,03bc	0,8a	1,0b	2,2a	15,5a	40,2a	31,7a	27,6a
TS+V4	0,07ab	0,6a	1,1b	2,8a	14,0a	36,4a	29,4a	27,0a
TS+R5	0,02abc	0,8a	0,8b	2,8a	13,4a	39,1a	30,3a	25,9a
V4+R5	0,00c	0,6a	1,0b	1,9a	15,3a	31,4a	31,4a	27,8a
TS+V4+R5	0,03bc	0,6a	1,0b	2,1a	14,3a	33,9a	29,2a	28,9a
DMS	0,05	1,5a	0,69	1,5	11,94	20,8	8,99	9,4
CV (%)	48,1	32,5	52,1	53,4	67,6	49,4	25,4	28,8
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	0,05	0,6	1,0	2,2	12,5	41,3	26,5	26,9
45	0,03	0,6	1,0	2,1	14,2	35,9	29,6	29,8
90	0,02	1,0	0,9	2,4	15,0	33,4	30,9	26,7
180	0,06	0,6	1,5	2,8	17,8	31,4	32,2	26,3
Efeito	$Q^{(1)}$	ns	$Q^{(2)}$	ns	$L^{(3)}$	$L^{(4)}$	$L^{(5)}$	ns
CV (%)	33,2	28,0	43,5	50,8	39,8	42,1	21,7	26,6
Interação B x N	$1,8^{ns}$	$1,2^{ns}$	$10,1^{ns}$	$0,9^{ns}$	$0,76^{ns}$	$0,9^{ns}$	$0,76^{ns}$	$0,9^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em dada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}y = 0,05-0,0007x+0,000004x^2$ $R^2=0,99$**; $^{(2)}y = 1,04-0,04x+0,00004x^2$ $R^2=0,93$*; $^{(3)}y = 12,6+0,03x$ $R^2=0,99$**; $^{(4)}y = 39,6-0,05x$ $R^2=0,85$*; $^{(5)}y = 27,5+0,03x$ $R^2=0,86$*

Após desdobramento da interação BxN na safra “da seca”, na peneira 15 incrementos mais acentuados foram observados no tratamento TS+V4 quando foram aplicados 180 kg ha^{-1} de N (Tabela 90).

Tabela 90. Classificação do tamanho dos grãos (peneira 15) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo na safra "da seca".

Bioestimulante	N em cobertura (kg ha^{-1})				Regressão
	0	45	90	180	
			Peneira 15 (%) - Seca		
Testemunha	1,5	2,5	2,4	3,6ab	y=1,7+0,01x R^2=0,92*
TS	2,2	2,2	2,4	1,8ab	ns
V4	2,9	1,6	1,8	2,3ab	ns
R5	1,8	1,7	2,7	2,7ab	ns
TS+V4	2,3	2,2	2,4	4,3a	y=1,9+0,01x R^2=0,82*
TS+R5	2,7	2,8	3,0	2,6ab	ns
V4+R5	2,5	1,5	2,2	1,5b	ns
TS+V4+R5	1,7	2,3	2,0	2,4ab	ns
DMS (Bioestimulante dentro de N em cobertura) = 2,6					

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5).

O bioestimulante não influenciou a percentagem de grãos retidos nas peneiras 12, 11, 10 e fundo na safra "das águas" e "da seca" (Tabela 91). Com relação às doses de N aplicadas em cobertura, na safra "das águas", em todas as peneiras foi observado um decréscimo na percentagem de grãos retidos à medida em que se aumentava a dose de N, o contrário ocorreu na safra "da seca" (Tabela 92), e mesmo quando não foi observado resultado significativo, acréscimos foram obtidos até a maior dose de N aplicada (180 kg ha^{-1}).

Tabela 91. Classificação do tamanho dos grãos (peneiras 12, 11, 10 e Fundo) do feijoeiro em função da aplicação do bioestimulante e doses de N em cobertura, em experimento de campo nas safras “das águas” e “da seca”.

Tratamento	Peneira 12		Peneira 11		Peneira 10		Fundo	
	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca	Águas	Seca
Bioestimulante	(%)							
Testemunha	31,6a	21,7a	9,3a	7,8a	8,6a	3,5a	4,8a	1,5a
TS	29,2a	23,5a	9,0a	9,6a	8,2a	3,8a	4,6a	1,8a
V4	32,6a	20,7a	10,1a	7,8a	9,6a	3,1a	5,9a	1,2a
R5	31,1a	19,1a	8,5a	6,3a	7,5a	2,7a	4,5a	1,0a
TS+V4	31,8a	20,3a	9,5a	8,2a	8,8a	3,2a	5,3a	1,5a
TS+R5	32,0a	20,3a	9,8a	7,1a	8,7a	2,8a	4,9a	1,1a
V4+R5	30,5a	24,7a	8,8a	8,9a	7,9a	3,2a	5,1a	1,5a
TS+V4+R5	31,1a	22,5a	9,8a	7,7a	9,1a	2,7a	5,1a	1,5a
DMS	9,27	9,3	4,92	5,5	5,4	2,6	2,2	1,5
CV (%)	25,0	36,5	44,2	58,1	53,6	70,0	36,9	89,4
N em cobert. (kg ha^{-1})								
0	33,0	20,0	10,8	6,1	10,2	2,1	5,9	0,8
45	31,7	21,2	9,6	7,1	8,9	2,4	4,9	0,9
90	31,2	22,5	9,2	9,0	8,0	3,3	4,8	1,6
180	29,0	22,7	7,8	9,5	7,1	4,5	4,4	2,3
Efeito	$L^{(1)}$	ns	$L^{(2)}$	$L^{(3)}$	$L^{(4)}$	$L^{(5)}$	$L^{(6)}$	$L^{(7)}$
CV (%)	16,8	28,1	28,3	43,0	35,1	59,6	31,8	92,3
Interação B x N	$0,9^{ns}$	$1,4^{ns}$	$0,7^{ns}$	$1,2^{ns}$	$0,9^{ns}$	$0,8^{ns}$	$0,5^{ns}$	$0,4^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em dada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), V4 (pulverização em V4), R5 (pulverização em R5), TS+V4 (tratamento de semente + pulverização em V4), TS+R5 (tratamento de semente + pulverização em R5), V4+R5 (pulverização em V4 + pulverização em R5) e TS+V4+R5 (tratamento de semente + pulverização em V4 e R5). $^{(1)}$ $y = 32,9-0,02x$ $R^2=0,98^*$; $^{(2)}$ $y = 10,6-0,02x$ $R^2=0,97^{**}$; $^{(3)}y = 6,4+0,02x$ $R^2=0,87^{**}$; $^{(4)}$ $y = 9,88-0,02x$ $R^2=0,93^{**}$; $^{(5)}y = 1,9+0,01x$ $R^2=0,98^{**}$; $^{(6)}y = 5,6-0,008x$ $R^2=0,80^*$; $^{(7)}y = 0,7+0,009x$ $R^2=0,96^{**}$.

6.2. Cultura do trigo

6.2.1 Experimento III (bioestimulante x nitrogênio x genótipos)

Não foi observado efeito isolado do uso do bioestimulante nas massas de matéria fresca e seca da parte aérea e raiz do trigo (Tabela 92). Porém, doses de N influenciaram as mesmas variáveis, exceto a massa de matéria seca da raiz, e na maior dose desse nutriente foram encontrados incrementos de 158,6%, 106,1% e 52,5% para as massas de matéria fresca e seca da parte aérea e matéria fresca de raízes, respectivamente. Viana; Kiehl (2010) observaram incremento na massa de matéria seca da parte aérea em seu ensaio com trigo cultivar 'IAC 370' e cinco doses de N, eles relataram que plantas de trigo demandam elevada quantidade de macronutrientes, principalmente N e K. Sangoi et al. (2007) explicam que a maioria dos trabalhos de N e trigo tratam apenas de uma cultivar, o que torna difícil a captação de novas informações sobre os novos genótipos, que por apresentarem base genética diferenciada, também respondem ao N de forma distinta. Os mesmos autores não encontraram diferença significativa para a massa de matéria seca das plantas de trigo cultivares 'BRS179', 'Fundacep 36' e 'Rubi' quando aplicaram 70 kg ha^{-1} de N de forma parcelada.

Para os diferentes genótipos avaliados, somente na massa de matéria seca da parte aérea foram encontrados resultados significativos, e para o trigo de porte semi-anão foi encontrada a menor média (Tabela 92). Para as outras variáveis, mesmo na ausência de resultados estatisticamente significativos, também foram observados valores inferiores para o genótipo G2. Segundo Hedden (2003) em muitas espécies a concentração de giberelina limita o crescimento da planta pois ela tem importante papel na regulação dos processos de desenvolvimento, que são críticos para a agricultura. Por isso o autor explica que, vias de sinalização da giberelina (biosíntese e transdução) são um dos principais alvos para a manipulação de genes na busca pela melhoria da produtividade.

Apesar de resultados não significativos para as variáveis, os dados apresentados concordam com Miralles et al. (1997). Eles sugeriram que menores valores na biomassa da parte aérea se correlacionam positivamente com o crescimento da raiz e vice-versa. Waines; Ehdaie (2007) estudando genótipos do Irã, China, Japão, Califórnia, Iraque, Paquistão e Europa (semi-anão e normais) observaram diferenças significativas entre a

produção de biomassa da raiz dos mesmos e associaram a produção de grãos com o incremento dessa variável. Os mesmos autores relataram que poucos são os estudos sobre o sistema radicular e muitas vezes estes não são considerados importantes apesar do mesmo incrementar a absorção de água, N e consequente redução da poluição ambiental.

Tabela 92. Massa de matéria fresca e seca da parte aérea e raízes de genótipos de trigo em função de diferentes doses de N na solução nutritiva e da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Matéria fresca da parte aérea	Matéria seca da parte aérea	Matéria fresca da raiz	Matéria seca da raiz
Bioestimulante	——— (g planta^{-1}) ———			
Testemunha	6,50a	1,05a	5,14a	0,22a
TS	6,83a	1,05a	4,53a	0,18a
T2	6,13a	0,92a	4,68a	0,22a
DMS	1,8	0,2	1,2	0,07
N em solução (mM)				
1	3,62b	0,66b	3,79b	0,22a
10	9,36a	1,36a	5,78a	0,20a
DMS	1,2	0,1	0,8	0,04
Genótipo				
G1	6,89a	1,13a	4,87a	0,22a
G2	6,08a	0,89b	4,70a	0,19a
DMS	1,2	0,1	0,8	0,04
CV (%)	31,41	21,17	28,67	38,6
Interação B x N	1,94^{ns}	2,78*	0,95^{ns}	0,65^{ns}
Interação B x G	0,02^{ns}	0,48^{ns}	0,24^{ns}	0,08^{ns}
Interação G x N	0,27^{ns}	2,25^{ns}	0,89^{ns}	3,91*
Interação B x G x N	0,05 ^{ns}	0,45^{ns}	0,82^{ns}	0,62^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização na iniciação floral). Os genótipos foram G1 (porte normal) e G2 (porte semi-anão).

Houve efeito da interação bioestimulante x N na massa de matéria seca da parte aérea (Tabela 92). Mediante desdobramento observa-se que o fornencimento de maior quantidade de N proporcionou maior produção de matéria seca das plantas de trigo (Tabela

93). Os tratamentos com bioestimulante proporcionaram decréscimos na massa de matéria seca da parte aérea na presença do fornecimento normal de N na solução (10 mM).

Tabela 93. Massa de matéria seca da parte aérea de genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar e N na solução nutritiva, em experimento de casa de vegetação. Média de dois genótipos.

Doses de N	Bioestimulante		
	Testemunha	TS	T2
	Masa de matéria seca da parte aérea		
1	0,62aB	0,70aB	0,67aB
10	1,49aA	1,40abA	1,19bA
DMS (Bioestimulante dentro de N) = 0,26			
DMS (N dentro de Bioestimulante) = 0,22			

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização na iniciação floral).

De acordo com a Tabela 94, observa-se que no genótipo de porte anão (G2) ocorreu decréscimo de 27,3% na massa de matéria seca das raízes quando foi aplicada a dose normal de N (10 mM) e médias superiores foram encontradas para o genótipo de porte normal (Tabela 94). Esses resultados discordam de Camargo (1974), que desde a década de 70 já observava as diferentes respostas entre o trigo de porte normal e semi-anão. O mesmo observou que os de porte menor demonstravam maior estabilidade e melhores reações nas maiores doses de N aplicadas (150 kg ha^{-1}) ao contrário do trigo normal em que o aumento da produtividade ocorreu até a dose de 50 kg ha^{-1}, ele concluiu que em condições de elevada adubação o trigo semi-anão pode beneficiar-se melhor do que o de porte normal. Assim como Coelho et al. (1998) estudando cultivar ‘Embrapa-22’ e quatro doses de N e também observaram incremento na massa de matéria seca até a dose de 94 kg ha^{-1}. Marchner (1995) explica que em cereais, doses de N aumenta a produção de fitohormônios e compostos promotores do crescimento e desenvolvimento assim, no presente estudo, a aplicação desse nutriente pode ter influenciado no metabolismo dos genótipos avaliados.

Tabela 94. Massa de matéria seca de raízes de genótipos de trigo em função da concentração de N na solução nutritiva, em experimento de casa de vegetação. Média de dois genótipos.

Doses de N	Genótipos	
	G1	G2
	Massa de matéria seca da raiz (g planta^{-1})	
1	0,21aA	0,22aA
10	0,24aA	0,16bA
DMS = 0,067		

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não foram encontrados resultados significativos para o comprimento, superfície, diâmetro e volume de raiz com diferentes formas de aplicação do bioestimulante e diferentes doses de N para os genótipos G1 e G2, porte normal e semi-anão, respectivamente; assim como para as suas interações (Tabela 95). Wojciechowski et al. (2009) relataram que os efeitos dos alelos *Rht* no sistema radicular não são claros e resultados em diferentes condições de crescimento são contraditórios. Subbiah et al. (1968) relataram que genótipos de trigo semi-anão tiveram menor sistema radicular quando comparado ao normal em experimento de campo. Siddique et al. (1990) relataram que cultivares de trigo semi-anão apresentaram menor massa de matéria seca do sistema radicular do que cultivares mais altas o que resultou, segundo o autor, numa baixa taxa raiz:parte aérea.

Muitos autores relatam a importância do estudo dos efeitos desses genes no sistema radicular dos cereais, principalmente pelo fato dos mesmo estarem inseridos na maioria dos cultivares de trigo utilizados atualmente. Wojciechowski et al. (2009) obtiveram resultados inconclusivos e explicam que pode ter sido devido aos diferentes antecedentes genéticos que formaram as atuais plantas de trigo; eles ainda relatam que plantas semi-anãs podem possuir menor sistema radicular por reduzir o investimento da massa seca nas raízes ou diferenças nas condições de crescimento, ou todos os fatores citados. Os mesmos autores em seu experimento com diferentes genótipos de trigo, semi-anão e normal, observaram que diferenças no comprimento da raiz, entre cultivares com alelo do nanismo e o controle, não foram variáveis, assim como o diâmetro.

Tabela 95. Comprimento, superfície, diâmetro e volume das raízes de genótipos de trigo em função de doses de N e da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Comprimento das raízes	Superfície das raízes	Diâmetro das raízes	Volume das raízes
Bioestimulante	(cm planta^{-1})	(cm^2 planta^{-1})	(mm)	(cm^3 planta^{-1})
Testemunha	58,98a	6,44a	0,024a	0,054a
TS	56,47a	6,27a	0,021a	0,054a
T2	65,39a	7,06a	0,022a	0,059a
DMS	11,1	1,3	0,004	0,01
N em solução (mM)				
1	60,25a	6,52a	0,021a	0,055a
10	60,31a	6,67a	0,023a	0,057a
DMS	7,5	0,9	0,002	0,007
Genótipo				
G1	59,00a	6,48a	0,022a	0,054a
G2	61,56a	6,71a	0,022a	0,057a
DMS	7,5	0,9	0,002	0,007
CV (%)	21,30	23,41	19,17	22,23
Interação B x N	1,00^{ns}	0,57^{ns}	0,12^{ns}	0,09^{ns}
Interação B x G	0,97^{ns}	0,69^{ns}	0,81^{ns}	1,23^{ns}
Interação G x N	0,28^{ns}	0,73^{ns}	1,86^{ns}	0,001^{ns}
Interação B x G x N	0,45^{ns}	0,75^{ns}	0,12^{ns}	0,77^{ns}

Médias seguidas da mesma letra na coluna, dentro de cada fator, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização na iniciação floral). Os genótipos foram G1 (porte normal) e G2 (porte semi-anão).

O tratamento de sementes e a pulverização foliar com o bioestimulante não promoveram efeitos sobre os teores de N e C na parte aérea e raízes dos diferentes genótipos de trigo, porém apesar dos resultados estatisticamente não significativos, médias superiores foram encontradas na parte aérea dos tratamentos TS e T2 (Tabela 96).

Diferenças significativas foram observadas nos teores de N e C quando foram aplicadas diferentes doses de N, exceto para o teor de C da raiz (Tabela 96). Teixeira Filho et al. (2007) encontraram resultados significativos e um incremento no teor de N foliar foi observado quando aplicaram esse nutriente até a dose de 77 kg ha^{-1}. Viana; Kiehl (2010)

não encontraram resultados significativos para o acúmulo de N da parte aérea da cultivar ‘IAC 370’ em casa de vegetação quando aplicaram cinco doses de N.

Diferenças significativas foram observadas no teor de N da parte aérea entre os genótipos avaliados, e no trigo de porte anão foi observada a maior média que foi 18,9% superior àquela observada para o de porte normal (Tabela 96).

Tabela 96. Teor de N e C na parte aérea e raízes de genótipos de trigo em função de doses de N e da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	N na parte aérea	C na parte aérea	N nas raízes	C nas raízes
Bioestimulante	———	(g kg^{-1})	———	
Testemunha	24,7a	396,1a	12,6a	400,6a
TS	26,7a	421,5a	11,9a	399,4a
T2	26,9a	420,3a	12,9a	398,1a
DMS	0,5	5,2	0,3	3,0
N em solução (mM)				
1	13,1b	424,3a	8,8b	37,2b
10	39,1a	401,0a	16,1a	42,7a
DMS	0,4	3,5	0,2	2,0
Genótipo				
G1	23,9b	405,1a	11,9a	366,9a
G2	28,4a	420,2a	13,0a	401,9a
DMS	0,4	3,5	0,2	2,0
CV (%)	23,9	14,67	23,81	8,58
Interação B x N	$0,79^{ns}$	$0,92^{ns}$	$0,22^{ns}$	$0,81^{ns}$
Interação B x G	$0,71^{ns}$	$0,95^{ns}$	$0,001^{ns}$	$0,25^{ns}$
Interação G x N	2,82*	$1,07^{ns}$	$0,74^{ns}$	$0,07^{ns}$
Interação B x G x N	$0,84^{ns}$	$0,89^{ns}$	$1,96^{ns}$	$0,91^{ns}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna, destro de cada fator, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização na iniciação floral). Os genótipos foram G1 (porte normal) e G2 (porte semi-anão).

Interação genótipo x N foi significativa para o teor de N na parte aérea (Tabela 96). Com o desdobramento da interação, incrementos foram observados tanto no G1 quanto no G2 quando foi aplicado 10mM de N (Tabela 97). Na maior dose de N aplicada, o genótipo G2 apresentou maior teor de N da parte aérea.

Tabela 97. Teor de N da parte aérea em diferentes genótipos de trigo em função de diferentes doses de N, em experimento de vaso.

Doses de N (mM)	Genótipos	
	G1	G2
	N na parte aérea (g kg^{-1})	
1	12,3aB	13,8aB
10	35,4bA	43,0aA

DMS (Bioestimulante dentro de Genotipo) = 0,518

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6.2.2. Experimento IV (análise metabolômica)

6.2.2.1. Análise multivariada - PCA - do NMR

Não foram encontrados resultados significativos no nível de metabólitos produzidos devido ao uso do bioestimulante na cultura do trigo. Porém, as doses de N promoveram diferenças entre os tratamentos (Figura 2). A análise pelo PCA (do inglês 'Principal Component Analysis') é utilizada pela metabolômica descritiva e agrupamento das amostras, pois cria novas variáveis pela combinação linear dos metabólitos detectados enquanto que maximiza a variação das amostras, ou seja, reduz a dimensionalidade dos dados pela combinação das variáveis originais (CEVALLOS-CEVALLOS et al., 2009).

Foi encontrada uma primária separação dentro do conjunto de dados e foi devido somente aos tratamentos com o N (Figura 2). Esta separação corresponde a 88% da variância total e os tratamentos que receberam a dose normal de N (10 mM) foram agrupados no lado direito da figura, ao contrário daqueles que receberam a menor dose que foram

agrupados no lado esquerdo, demonstrando com clareza a importância desse nutriente e seu papel no metabolismo das plantas.

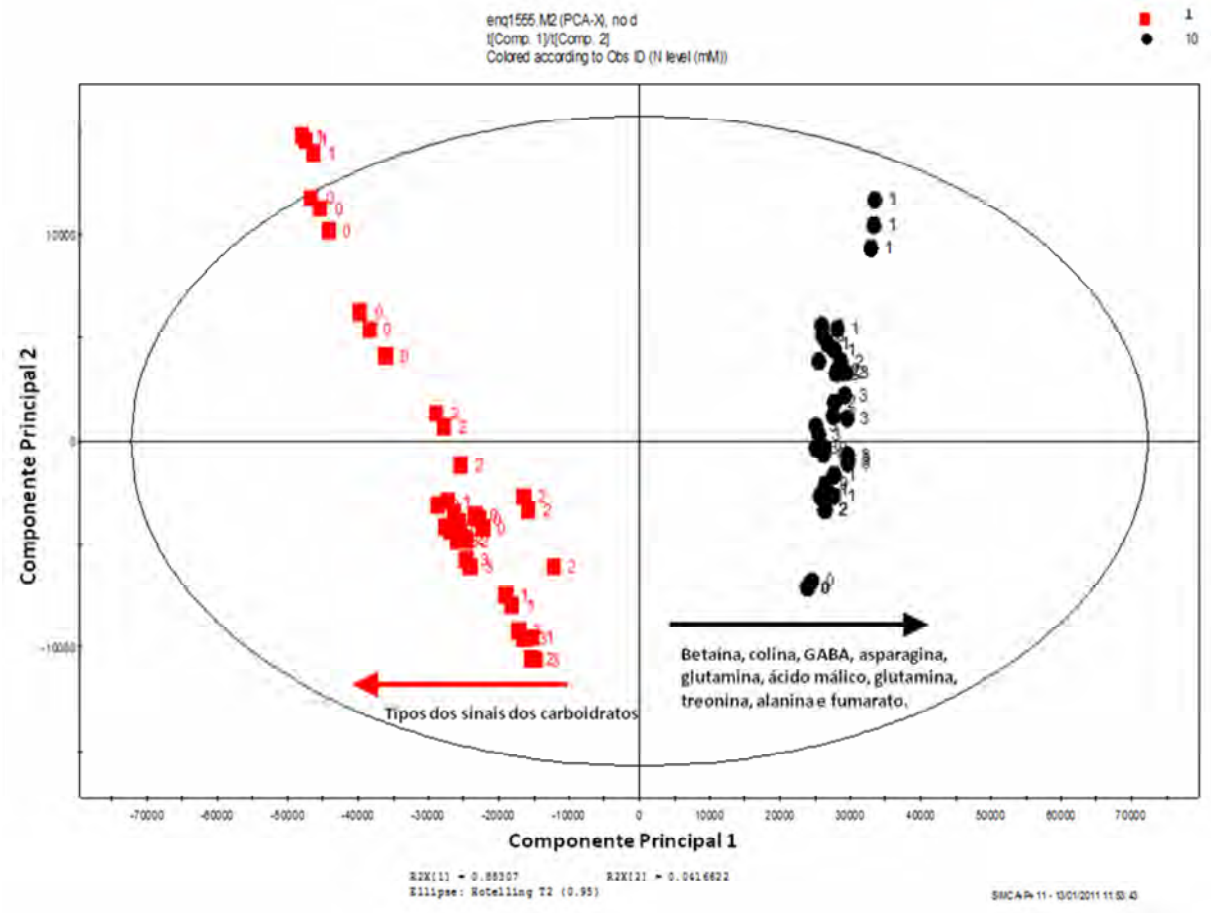

Figura 2. PCA (‘Principal Component Analysis’) oriunda do conjunto completo de dados do NMR. Em vermelho a dose de N correspondendo a 1 mM e em preto a dose de 10 mM. Os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante.

Teores elevados de carboidratos, de uma maneira geral, foram encontrados nos tratamentos que receberam a menor dose de N. Para aqueles que receberam a dose normal de N, foram encontrados elevados teores de metabólitos nas folhas, incluindo asparagina, treonina, alanina, betaína, colina, malato, GABA (Ácido γ-amino butírico), glutamina e fumarato (Figura 2). Os resultados encontrados em relação aos níveis de aminoácidos nas folhas pode ser devido ao processo do metabolismo assim como a

assimilação do N nesse órgão; segundo Taiz; Zeiger (2009) esse processo vai depender da quantidade fornecida, se for aplicada a dose normal (ou maior) o N vai ser logo transportado para as folhas para ser assimilado, dessa forma o NH_4^+ e o NO_3^- fornecidos reagindo com o glutamato é convertido a aminoácido (nesse caso a glutamina) com a participação das enzimas GS (Glutamina sintetase) e GOGAT (Glutamato sintase).

A asparagina é utilizada nos órgãos em crescimento; a treonina é utilizada para a síntese da isoleucina; a alanina está na rota do Ácido Mevalônico e na síntese da giberelina e citocinina; a betaína, oriunda do metabolismo da colina, participa do ciclo da metionina; a colina é importante para o metabolismo do lipídios; o malato é formado a partir do piruvato e é fonte de CO_2 no Ciclo de Calvin e participa do Ciclo do Ácido Cítrico; GABA responde rapidamente ao estresse biótico ou abiótico; e o fumarato também é requerido para o Ciclo do Ácido Cítrico (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Se o agrupamento da análise multivariada compara os valores de dois ou mais componentes principais de cada amostra é necessário realizar a análise de novas variáveis ortogonais entre si, organizando na ordem decrescente de importância (SILVA, 2011), são os chamados PCs. No presente experimento, a análise PC2 descreveu uma variação devido a repetição biológica ao invés dos tratamentos com o bioestimulante, mesmo que algumas diferenças tenham sido sugeridas pelos mesmos, esses resultados não foram completamente consistentes quando foram analisados pelo PCA.

6.2.2.2. Dados do PCA – modo negativo - oriundos da analise ESI-MS

Pode-se observar os dados da infusão direta na Figura 3. Esses dados são amplamente consistentes com o que foi observado nos resultados da Figura 2, quando as mesmas amostras foram analisadas pelo NMR.

A análise ESI indica a fonte de ionização (SUMMER et al., 2007) e nesse trabalho apresentou altos níveis de íons relacionados aos carboidratos que foram encontrados nos tratamentos contendo 1 mM de N (Figura 3). Esses íons incluem *m/z* 341 (íon negativo, dissacarídeo $[M-H]^-$), *m/z* 365 (íon positivo dissacarídeo $[M+Na]^+$), *m/z* 381 (íon positivo dissacarídeo $[M+K]^+$), *m/z* 543 (íon positivo trissacarídeo $[M+K]^+$), *m/z* 705 (íon

positivo tetrasacarídeo $[M+K]^+$). Segundo Silva (2011) e Summer et al. (2007) *m/z* é a capacidade de alcance do scan, ou seja, é a razão entre massa do fragmento e sua carga elétrica.

Os ions *m/z* 447 and 593 (íons negativos) foram encontrados nos tratamentos que receberam dose normal de N (10 mM), porém foram observadas baixas concentrações dos mesmos nos tratamentos com a dose de 1 mM. No trigo, os tecidos foliares são comumente relacionados aos flavonóides glicosídeos e são geralmente isoorientina e *O*-pentoseisoorientina, respectivamente, normalmente classificados como antioxidantes. Os flavonóides constituem a maior classe dos fenólicos vegetais e resultam de duas rotas biossintéticas nas quais o N participa significativamente, a rota do Ácido Chiquímico (a partir da fenilalanina e ácido cinâmico) e a rota do Ácido Mevalônico (a partir da Acetil CoA).

Segundo Taiz; Zeiger (2009) os açúcares são muito comuns na estrutura dos flavonóides por isso a maioria deles ocorrem naturalmente como glicosídeos. O conteúdo dos mesmos varia com a época de colheita e local de cultuvo (LIE et al., 1991). Em *Passiflora incarnata* foi realizado um experimento com o objetivo de determinar a variação do conteúdo de flavonóides em vários estágios de desenvolvimento da planta, e uma maior concentração foi detectada no pré-florescimento (VILLAS BÔAS, 2007), o mesmo ocorreu no presente trabalho que foi colhido na fase de iniciação floral.

Outros íons encontrados nos tratamentos com a dose normal de N incluem *m/z* 191 (quinate), *m/z* 377 (desconhecido), *m/z* 353 (ácido neoclorogênico) e *m/z* 771 (apigenina-6-C-ß-galactosil-8-C-ß-glucosil-O-glucuronopiranosídeo). Em um íon no modo positivo, aqueles responsáveis pela separação incluem *m/z* 104 (colina), 118 (betaína), 156, 293 e 410.

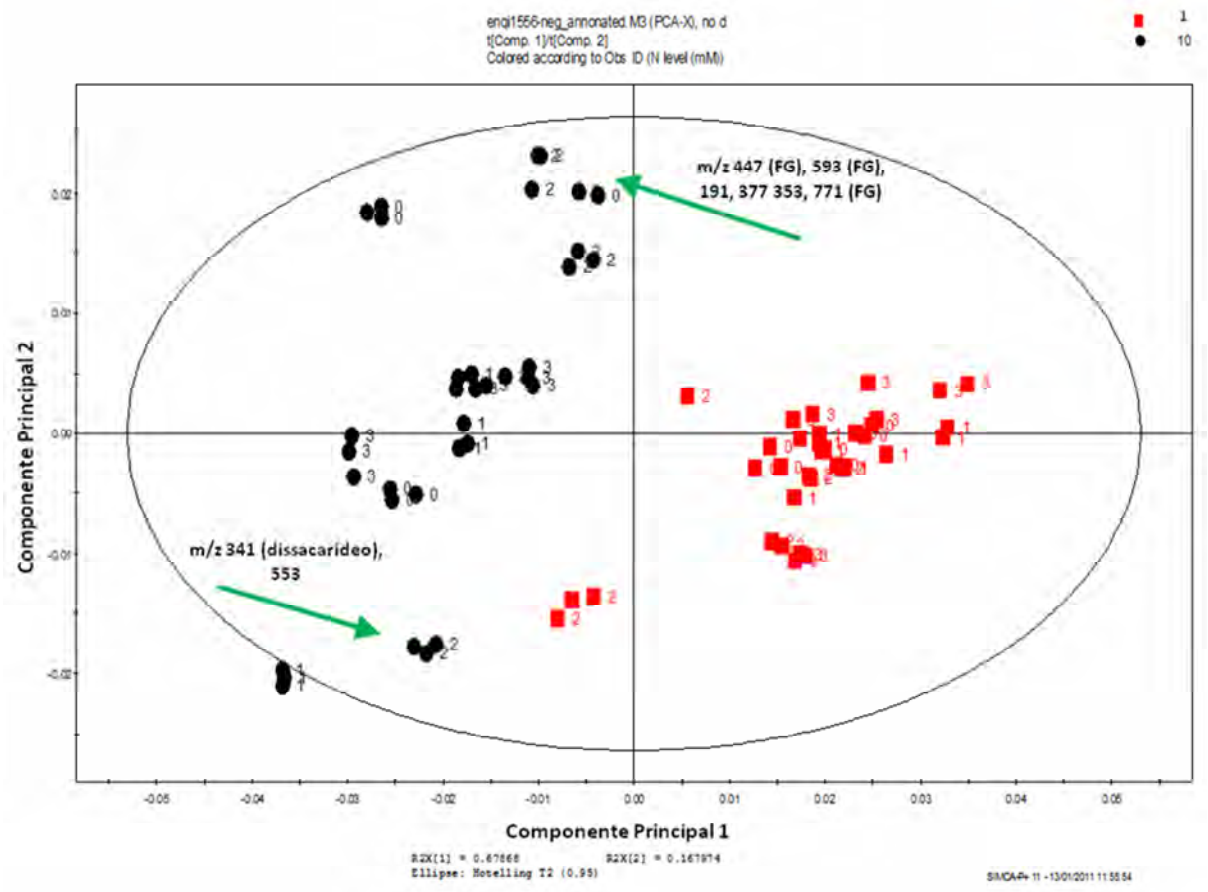

Figura 3. PCA (‘Principal Component Analysis’) oriunda do modo negativo do conjunto de dados da análise NMR. Em vermelho a dose de N correspondendo a 1mM e em preto a dose de 10 mM. Os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante. (Nota: FG= Flavonóide Glicosídeo).

6.2.2.3. Dados PCA – modo positivo - oriundos da análise ESI-MS

Na análise PCA (dados do NMR), e os dados dos dois modos de infusão direta, pode-se observar uma separação consistente entre os tratamentos com o N, o que confirma sua ação pois quando foram avaliados isoladamente o mesmo aconteceu (Figura 4). Grande variação em algumas repetições foi observada, o que pode ter sido devido ao posicionamento das bandejas na casa de vegetação, mesmo porque os vasos foram modificados dentro de um bloco para manter a uniformidade, porém os blocos não o foram.

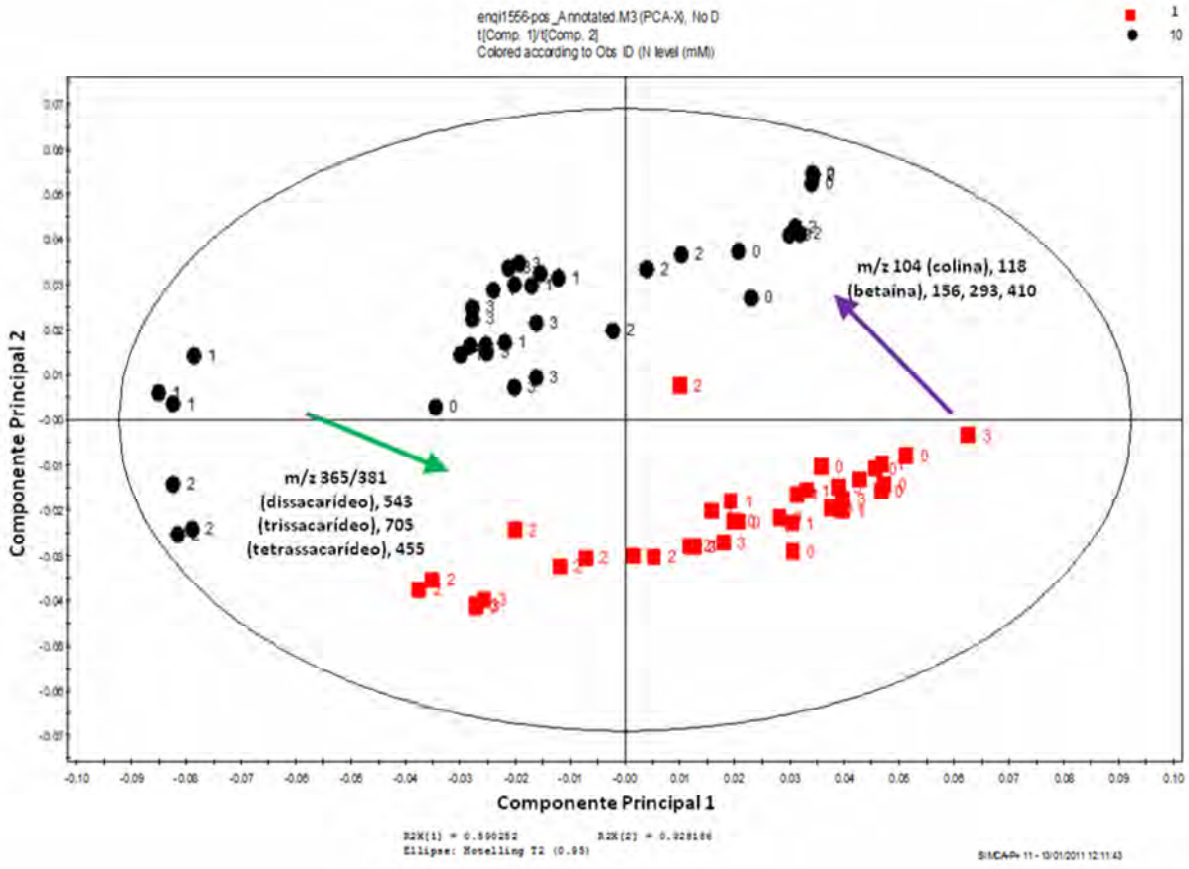

Figura 4. PCA ('Principal Component Analysis') oriunda do modo positivo do conjunto de dados da análise NMR. Em vermelho a dose de N correspondendo a 1mM e em preto a dose de 10 mM. Os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante.

Um subconjunto de metabólitos já conhecidos, a partir do conjunto de dados do NMR, foram analisados na tentativa de identificar algum que tenha sido influenciado pela aplicação do bioestimulante. Nas figuras a seguir (Figuras 5, 6, 7, 9, 10 e 11) pode-se observar os valores médios obtidos ($\mu g\ mg^{-1}$) em determinadas regiões desses metabólitos.

Quando as regiões médias de carboidratos foram identificadas pôde-se observar que os resultados oriundos do NMR e ESI, apresentados anteriormente, foram confirmados. A maioria dos carboidratos foram afetados pelas diferentes doses de N, e na dose de 1 mM de N foram encontrados altos níveis da maioria dos carboidratos (Figura 5). Excesso

de carboidrato não aproveitado para síntese de aminoácidos e de outros compostos nitrogenados é um sintoma comum quando ocorre a privação de N.

Esse sintoma varia de acordo com a fonte de N. Se ocorre a absorção de amônio pela planta, uma grande demanda de carboidratos poderá ser utilizado imediatamente na síntese de aminoácidos (caso não haja deficiência), já com o nitrato, como ele deverá ser reduzido a amônio, a demanda de carboidratos é menor, proporcionando talvez uma menor expressão desse sintoma (MARCHNER, 1995). Apesar dessa afirmação, foi observado no presente experimento, cuja fonte de N foi o nitrato, uma diferença na demanda de carboidratos na menor dose desse nutriente.

Como já explicado anteriormente, os aminoácidos foram fortemente afetados pelos diferentes tratamentos com o N. Observa-se nas Figuras 6 e 7 que sob dose normal desse nutriente (10 mM) foram observados incrementos na maioria dos aminoácidos. Apesar dos resultados não significativos de acordo com a análise multivariada quanto ao uso do bioestimulante na cultura do trigo, quando foi utilizada a pulverização foliar incrementos foram observados nos níveis de glucose (Figura 5) e de aminoácidos (Figuras 6 e 7), tanto na dose de 10 mM quanto de 1 mM de N.

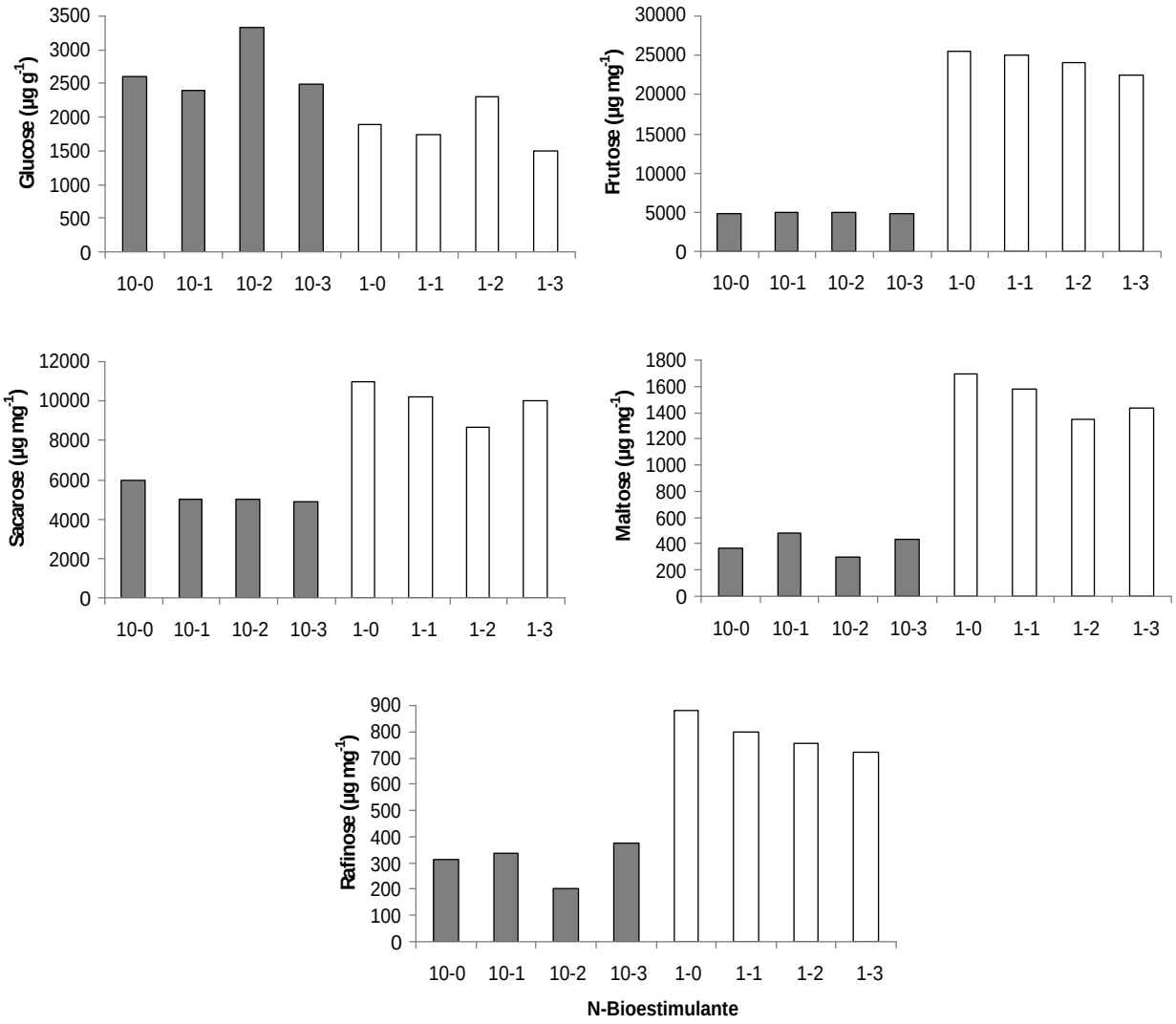

Figura 5. Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente).

Segundo Taiz; Zeiger (2009) esse carboidrato e aminoácidos têm importante papel no metabolismo vegetal: a) a glucose é um dos principais produtos da fotossíntese, e o amido e a celulose derivam da sua desidratação; b) a alanina, sintetizada a

partir do piruvato, age nos ciclos da glicose e do ácido tricarboxílico; c) a prolina e a glutamina são oriundas do glutamato e precursora de outros aminoácidos; d) a isoleucina e a treonina são oriundas do aspartato e, e) a leucina e a valina são oriundas do piruvato.

Para os mesmos autores, o GABA (ácido γ-amino butírico) é metabolizado através de um curto caminho composto por três enzimas, uma no citosol chamada de Glutamato descarboxilase (GAD), outra na mitocôndria chamada de GABA transaminase (GABA-T) e a última conhecida como Semialdeído succínico desidrogenase (SSADH), com participação da Calmodulina (CaM); esse 'curto caminho' é chamado de desvio GABA pois ignora dois passos para o Ciclo do Ácido Tricarboxílico. O interesse por esse composto ocorreu principalmente devido à sua rápida resposta aos estresses bióticos ou abióticos, principalmente térmico (TAIZ; ZEIGER, 2009). Entre as suas funções estão a regulação do pH citossólico, fluxo do C no ciclo do Ácido Tricarboxílico, metabolismo do N, dissuação de insetos, proteção contra estresse oxidativo, osmorregulação, sinalização e balanço C:N (BOUCHÉ; FROMM, 2004).

Observa-se um incremento considerável no nível de asparagina quando foi utilizada tanto a dose de 10mM quanto a de 1mM de N quando associadas ao tratamento de sementes com o bioestimulante, e mesmo quando ocorre a associação com a pulverização foliar, incrementos foram observados (Figura 6). Nota-se que os níveis de asparagina observados nesse experimento foram muito altos e em nenhuma análise metabolômica realizada anteriormente no Rothamsted Research Institute esse resultado foi observado. Talvez a análise metabolômica, realizada com amostras crescidas em câmaras de crescimento controlado, possa confirmar que diferentes cultivares de trigo, principalmente aqueles contendo o gene *Rht*, podem reprogramar seu metabolismo na presença do bioestimulante. Seria necessário a repetição do experimento, em ambiente mais controlado, para a confirmação dos resultados.

A asparagina não só é precursora das proteínas mas também um elemento chave no transporte e armazenamento de N devido à sua estabilidade e alta razão N/C (2N para 4C da asparagina) auxiliando no balanço do metabolismo desses elementos nos vegetais. Em condições limitadas de energia, a atividade da GS (Glutamina sintetase) e GOGAT (Glutamato sintase) são inibidas e estimulam a AS (Asparagina sintase) favorecendo a assimilação do N em asparagina, um composto rico em N e suficientemente estável para ser

transportado por longas distâncias ou armazenado por um longo tempo (TAIZ; ZEIGER, 2009).

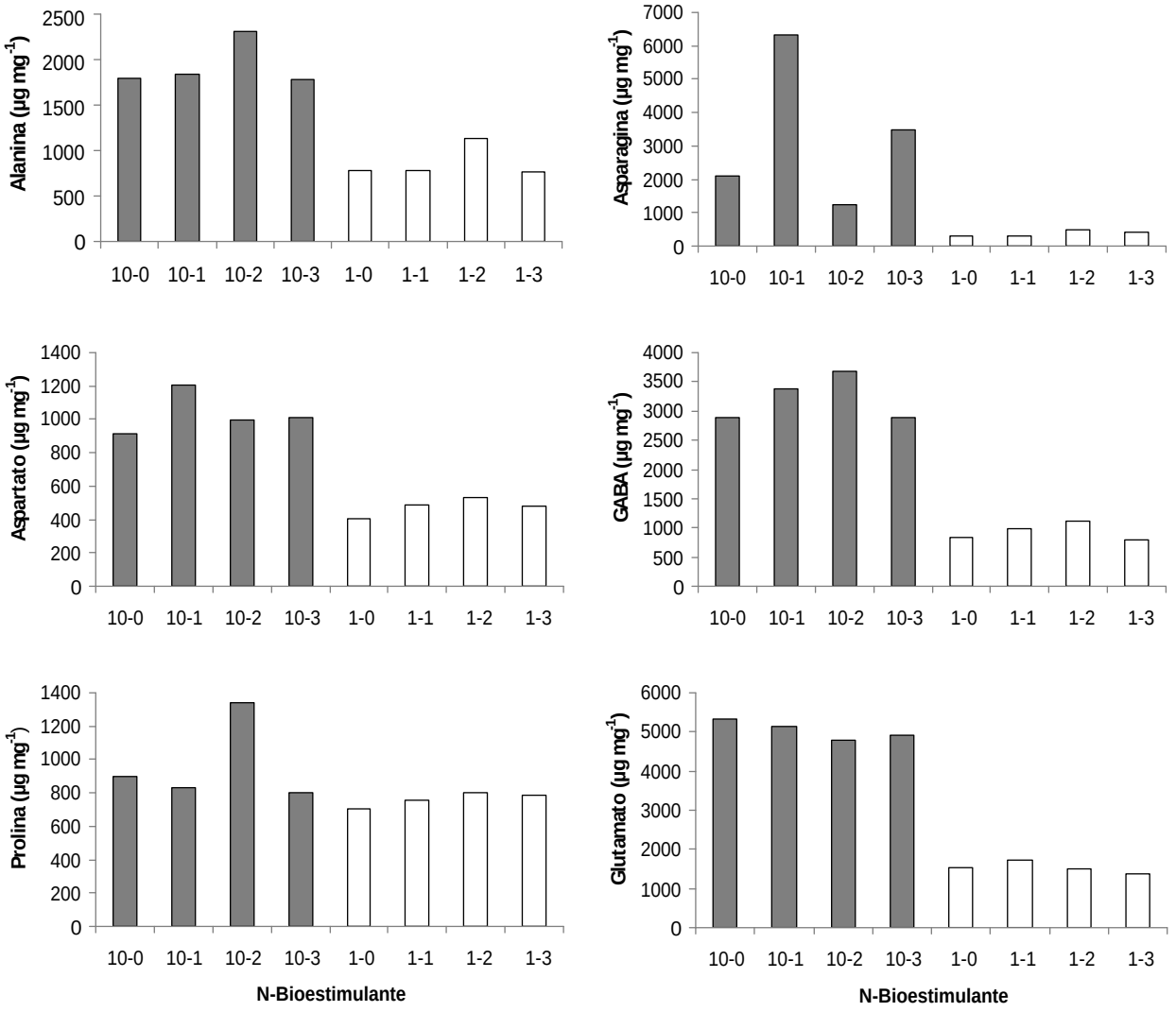

Figura 6. Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente).

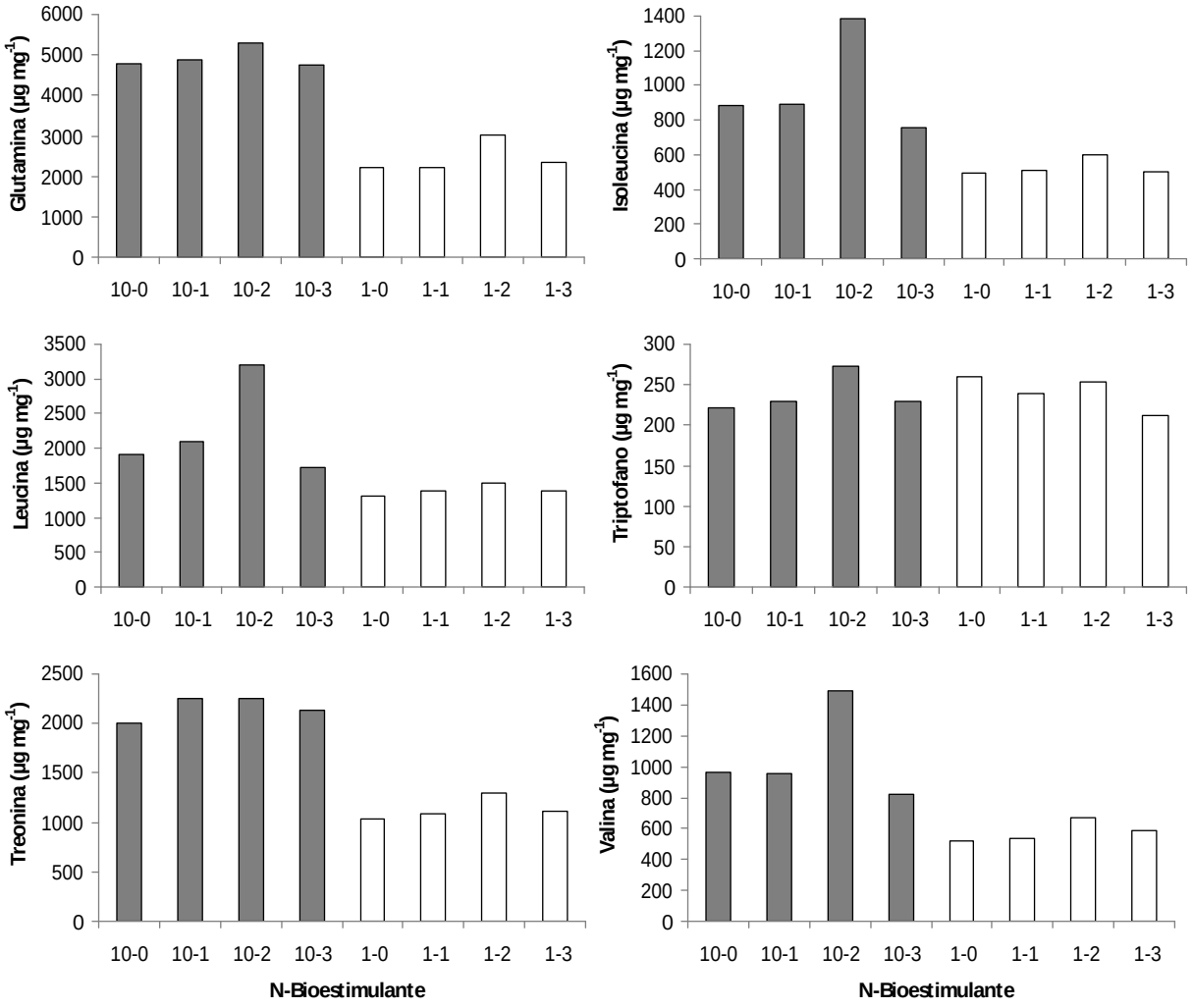

Figura 7. Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente).

Análises no espectro da matéria-prima do NMR (alíquota de 15 mg do tecido vegetal selecionado como padrão), no entanto, mostrou que esse efeito não foi reproduzido através das repetições. Os níveis de asparagina observados não foram consistentes com uma típica variação biológica já estudadas para essa cultura através da análise metabolômica. Com essas observações e afirmações, provavelmente essa variação foi devido

ao bioestimulante aplicado nas sementes. O resultado abaixo representa melhor esse efeito, o qual nas amostras TS-A e TS-B tem altos níveis de asparagina (Figura 8), mas as repetições TS-C e TS-D não os têm. Como relatado anteriormente, seria necessário a repetição do experimento em câmaras de crescimento controlado para a comprovação dos resultados.

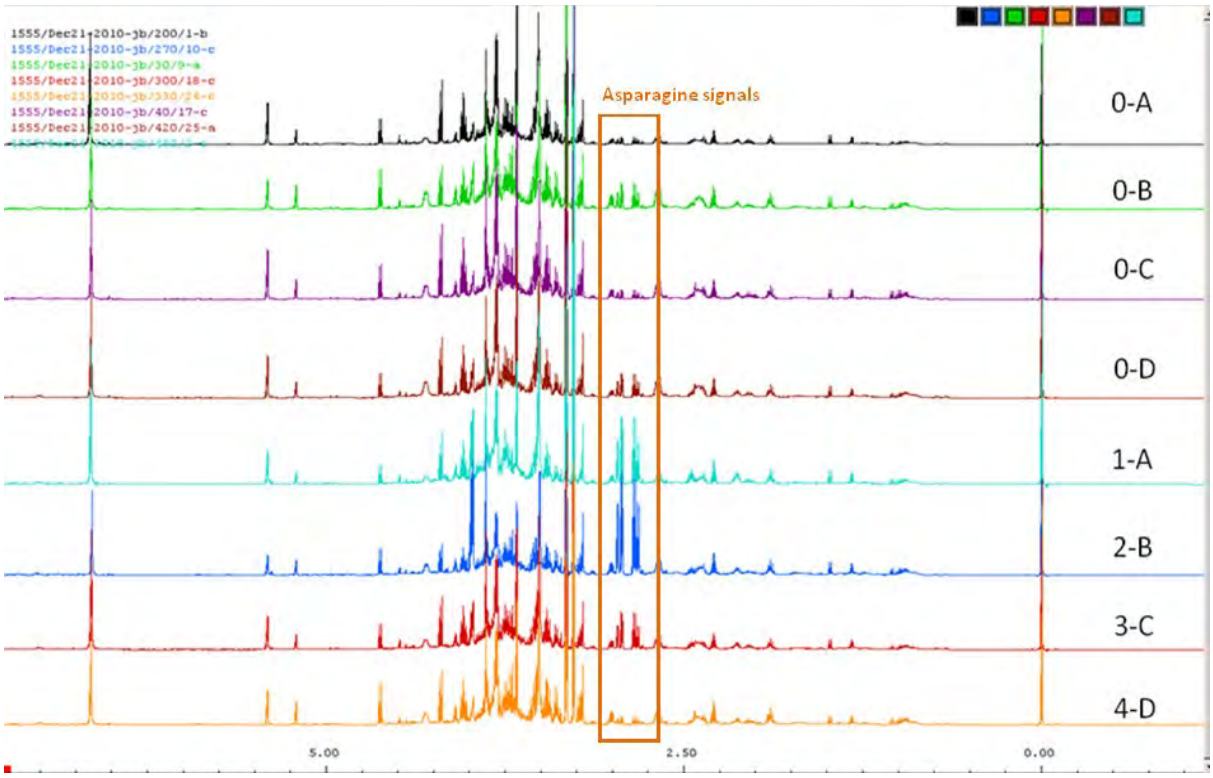

Figura 8. Expansão da região dos metabólitos oriundos do espectro da ressonância magnética próton nuclear em plantas trigo sob diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. O número zero corresponde à amostra padrão. As referências 1-A, 2-B, 3-C e 4-D, correspondem às quatro repetições do tratamento de sementes (tratamento TS).

Picos de flavonóide/fenilpropanóide oriundos do NMR indicaram que níveis de flavonóides foram tipicamente incrementados na dose 10mM de N, enquanto que resultados para o ácido clorogênico indicaram que este foi incrementado quando ocorreu supressão desse nutriente (Figura 9). Trabalhos envolvendo a cultura do café e adubação

nitrogenada demonstraram uma diversidade de resultados em relação aos efeitos desse nutriente no teor de ácido clorogênico, ou seja, existe uma relação direta e positiva entre os mesmos: com o incremento do N, ocorre incremento nos níveis de ácido clorogênico indicando uma possível melhora no estado nutricional e de defesa química dessa cultura, porém diminui a qualidade da bebida (MALTA et al., 2003; FERNANDES, 2007; SANTOS et al., 2005). Resultados quanto a essa relação ainda não são consistentes e revelam uma infinidade de resultados contraditórios, como os de Malta et al. (2003) que com o incremento de N na cultura do café ocorreu aumento nos níveis de ácido clorogênico, mas somente quando utilizou o amônio como fonte de N; ao contrário de Fernandes (2007) que observou um incremento nutricional na parte aérea do cafeeiro, mas um decréscimo nos teores desse ácido.

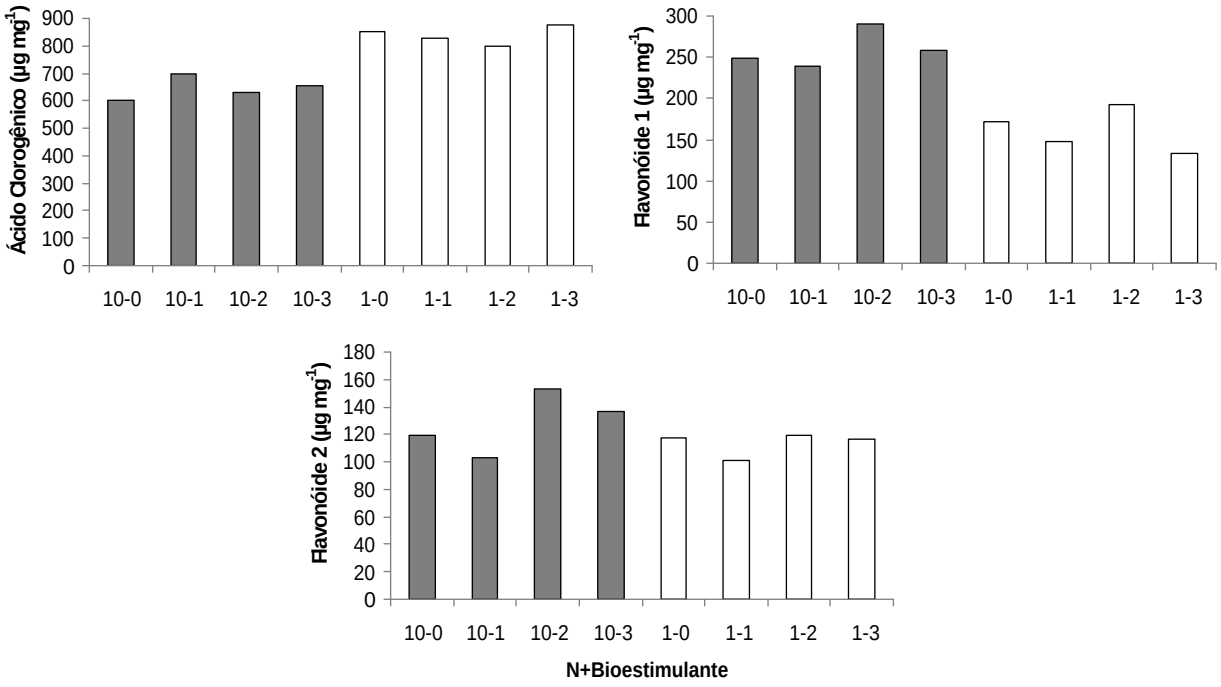

Figura 9. Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente).

A relação inversa pode ser devido ao balanço carbono/nutriente; o excesso de N faz com que essa relação se reduza e com isso o carbono é alocado para o crescimento diminuindo a concentração de compostos de defesa formados por ele; a disponibilidade de nutrientes estimula o crescimento das folhas novas, aumenta a força do dreno e a demanda por carboidratos diminuindo assim a quantidade de compostos orgânicos destinados à sintese de compostos fitoquímicos de defesa (FERNANDES, 2007).

Enquanto maiores níveis de malato e putrescina foram encontrados na dose de 10 mM de N, para o fumarato incrementos foram observados na menor dose (1 mM de N) (Figura 10).

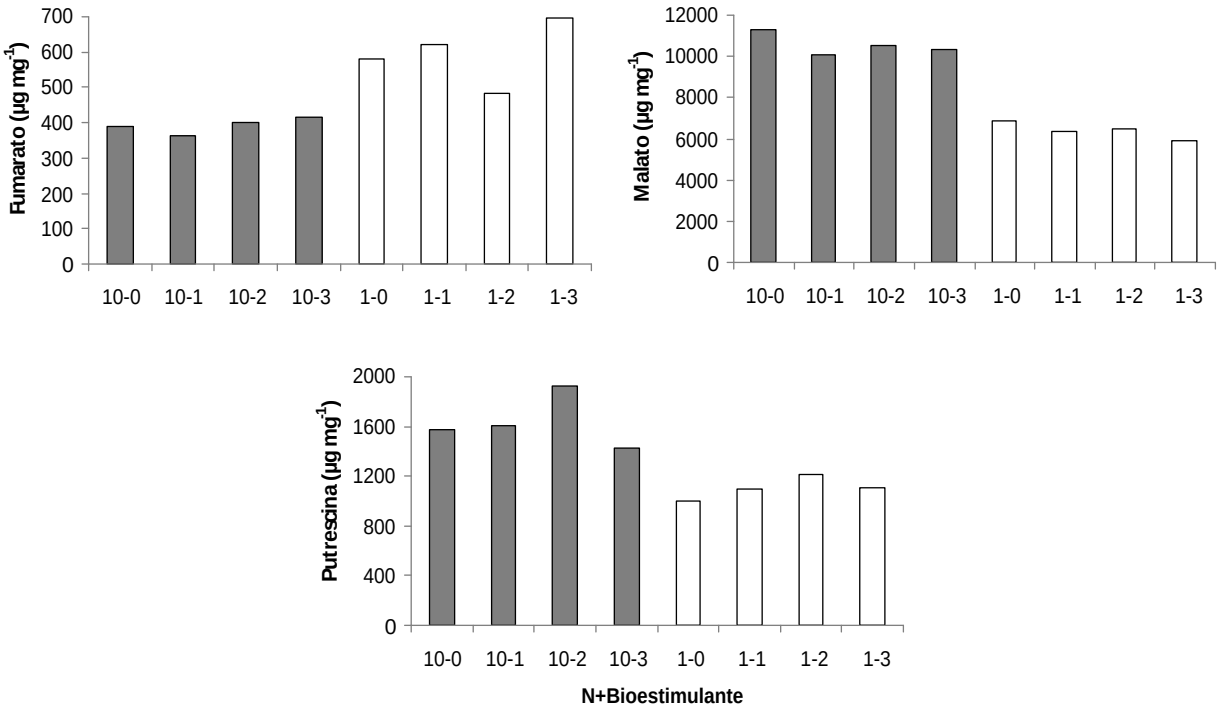

Figura 10. Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente).

Doadores de betaína no trigo incluem a glicina betaína, colina, colina-*O*-sulfato e trigonelina. A glicina betaína é de longe o mais dominante nesse grupo de compostos (comparando as respostas aos sinais no eixo) e esse metabólito foi o mais influenciado pelos diferentes níveis de N, e na maior dose, foram observados os maiores incrementos do mesmo (Figura 11). Outro incremento evidente, devido às diferentes doses de N, também foi observado para a colina e trigonelina, mas foi de forma menos pronunciada.

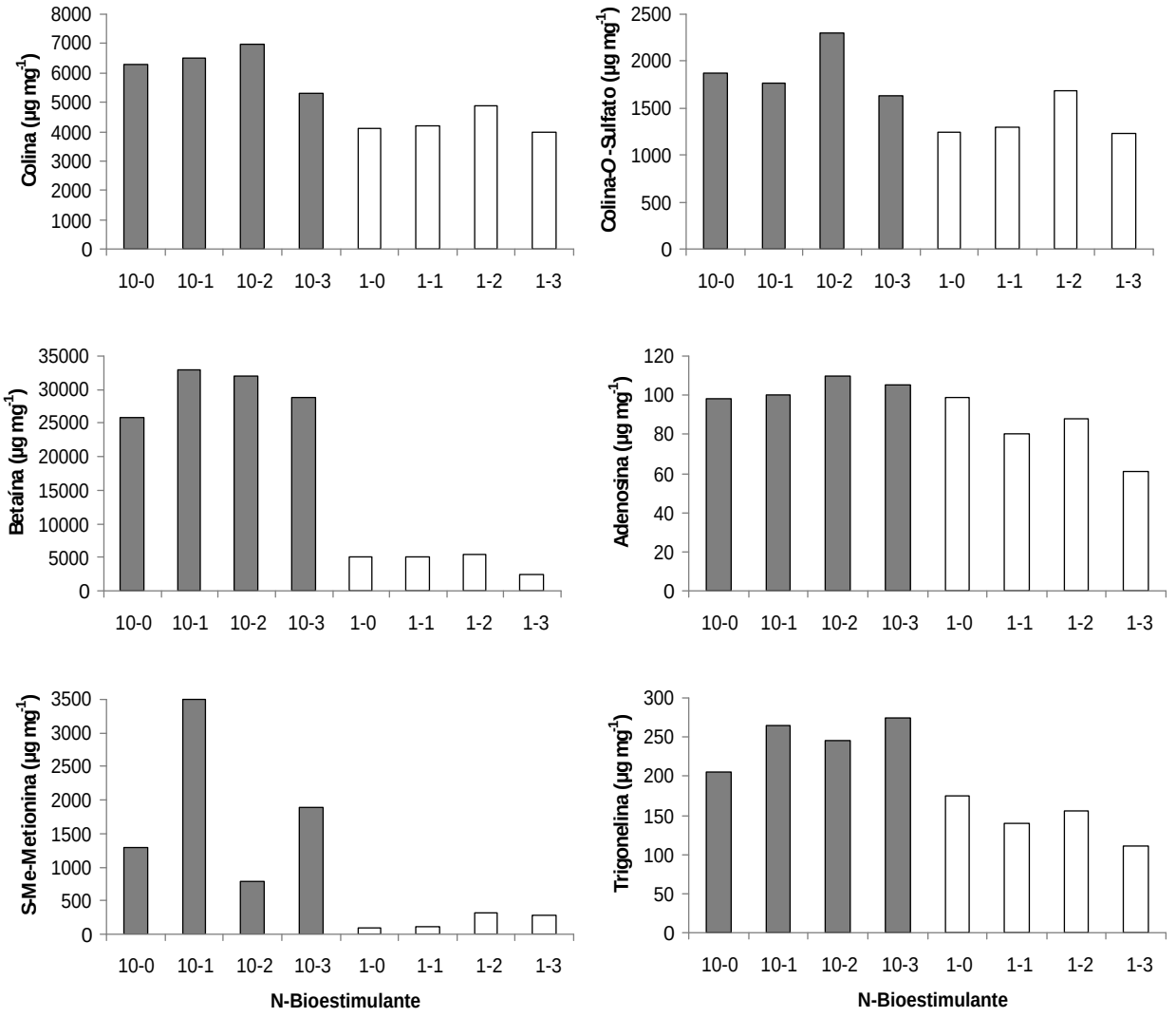

Figura 11. Níveis de metabólitos determinados a partir das análises no NMR e ESI-MS e sua relação com as diferentes doses de N e aplicação do bioestimulante via sementes e/ou pulverização foliar. No eixo *x*, as doses de N correspondem aos números 10 e 1 (10 mM e 1 mM, respectivamente) e os números 0, 1, 2 e 3 representam os tratamentos com o bioestimulante (testemunha, tratamento de sementes, pulverização foliar e tratamento de sementes+pulverização foliar, respectivamente).

A análise PCA não é a ideal quando o objetivo é caracterizar as diferenças entre os tratamentos e quando ocorrem grandes diferenças entre as repetições como no presente estudo, e ainda que os resultados não foram significativos, quanto ao uso do bioestimulante na cultura do trigo, observa-se na Figura 11 que incrementos devido à pulverização foliar foram encontrados nos níveis de colina, colina *O*-sulfato e adenosina. Além disso, o tratamento de sementes também incrementaram os níveis de betaína, S-Me metionina e trigonelina, associados ou não à pulverização foliar. Nas duas formas de aplicação do bioestimulante foram observados incrementos tanto na dose normal de N quanto na sua restrição, 10 mM e 1 mM, respectivamente.

A 2-Metil metionina (S-Me metionina) apresentou resposta semelhante à asparagina devido aos diferentes níveis de N e formas de aplicação do bioestimulante; para esse aminoácido, altos níveis foram observados quando o tratamento de sementes foi realizado (Figura 11). Através desses resultados, pode-se deduzir que existe uma ligação entre a asparagina e a S-Me-metionina em relação aos efeitos do bioestimulante no tratamento de sementes de trigo possuidores do gene *Rht*.

6.2.3. Experimento V (bioestimulante x genótipos)

A aplicação de bioestimulante influenciou a altura, o número de perfilhos e o número de espigas por planta e as pulverizações foliares incrementaram os valores dos mesmos, ao contrário do tratamento de sementes que promoveu decréscimos nas variáveis analisadas e foram encontrados valores inferiores ao tratamento Testemunha (Tabela 98). Cato (2006) observou efeitos significativos para as mesmas variáveis quando aplicou bioestimulate em plantas de trigo cultivar ‘BRS 177’ sendo que valores superiores foram encontrados nas doses 4,93; 4,36 e 4,22 ml kg^{-1} de sementes para a altura, número de perfilhos e número de espigas por planta, respectivamente.

Não foram encontrados resultados significativos entre os diferentes genótipos avaliados (Tabela 98), apesar de comprovado por Na et al. (2009) que genótipos *Rht* tem menor altura e diferenças entre plantas semi-anãs e de porte normal podem chegar a 30%; Rebetzke et al. (2005) relataram que a presença desses genes podem reduzir altura da planta em até 50%, eles explicam ainda que genes *Rht* tem elongação da célula reduzida resultando

num decréscimo do comprimento do internódio e consequentemente plantas mais curtas, assim como coleóptilo e área foliar menores, para eles os coleóptilos mais curtos, quando associados aos alelos *Rht1* e *Rht2*, podem resultar num pobre estabelecimento e dessa forma uma redução no estande final de plantas.

Tabela 98. Altura, número de perfilhos e número de espigas de diferentes genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação.

Tratamento	Altura	Nº de perfilhos	Nº de espigas
	(cm planta^{-1})	(nº planta^{-1})	
Testemunha	82,19a	8,47ab	4,62ab
TS	54,35b	6,90b	3,69b
T2	81,37a	10,69a	6,30a
TS+T2	89,50a	9,19ab	5,56ab
DMS	20,5	3,2	1,99
Genótipos			
G1	81,44a	8,84a	4,87a
G2	72,27a	8,78a	5,22a
DMS	10,8	1,7	1,0
CV (%)	19,15	26,11	28,35
Interação B x G	1,72^{ns}	4,09*	2,66*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização no pré-florescimento), TS+T2 (tratamento de semente + pulverização no pre-florescimento). Os genotipos foram G1 (porte normal) e G2 (porte semi-anão).

Apesar de resultados não significativos, observa-se que a altura das plantas G2 foram 12,7% inferiores às plantas G1 (Tabela 98). Na et al. (2009) também não observaram diferenças nas alturas de plantas contendo genes sensitivos e não sensitivos à giberelina. Lobato (2006) encontrou diferença significativa para a altura quando avaliou três ensaios cada um com vinte genótipos de trigo de porte semi-anão e concluiu que há tendência das plantas mais altas apresentarem maior produção de grãos. Teixeira Filho et al. (2007) estudando quatro cultivares de trigo e cinco doses de N observaram que para a altura da planta resultados significativos foram encontrados apenas para as cultivares. Almeida et al. (2002)

relatam uma variedade de informações nas lavouras de trigo do Brasil, mas explicam que os perfilhos têm pouca participação na produtividade final.

Mediante desdobramento da interação, verifica-se que a aplicação do bioestimulante influenciou somente o genótipo de porte normal (G1) nas variáveis número de perfilhos e número de espigas (Tabela 99). Valores superiores foram observados quando ocorreu pulverização foliar na iniciação floral, associada ou não ao tratamento de sementes. Quando foi realizado tratamento de sementes valores inferiores foram observados, inclusive menores que o tratamento testemunha. Dessa forma, pôde-se comprovar a redução, nos genes *Rht*, da resposta à giberelina, pois os mesmos agem como um regulador negativo da sinalização à esse hormônio e a giberelina reage reprimindo sua função (HEDDEN, 2003); dessa forma, apesar de ser conhecido como hormônio da elongação do caule, e consequente incremento da altura, a giberelina também influi em diferentes processos fisiológicos como florescimento, desenvolvimento das flores e frutificação, pois está envolvida no crescimento dos filamentos e na deiscência das anteras, e assim contribui para a formação de importantes indicadores da produção do trigo, como o número de perfilhos e de espigas por planta (HIGASHI et al., 2002). Cato (2006) encontrou resultados significativos para a altura, número de perfilhos e número de espigas, e valores superiores foram encontrados quando aplicou o bioestimulante entre 2,0 e 5,0 mL kg^{-1} de semente.

Para os genótipos, o tratamento de sementes associado a pulverização foliar na iniciação floral (TS+T2) promoveu uma redução, no número de perfilhos, de 37,6% em relação ao tratamento Testemunha, onde foi encontrado o maior valor para essa variável.

Observa-se que foram encontrados resultados significativos para os componentes de produção do trigueiro quando foi aplicado o bioestimulante (Tabela 100). Apesar dos resultados estatisticamente semelhantes com o tratamento Testemunha, a pulverização foliar associada ao tratamento de sementes incrementou de forma expressiva essas variáveis. Para a altura, os tratamentos T2 e TS+T2 foram 27,7% e 21,6% superiores ao controle, respectivamente. O tratamento de sementes promoveu decréscimos e foram encontrados valores 49,1%, 52,9%, 50,1% e 50,5% inferiores à maior media encontrada para o número de grãos, massa de 1000 grãos, área e largura dos grãos, respectivamente.

Tabela 99. Número de perfilhos e número de espigas por planta de genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de casa de vegetação.

Genótipo	Bioestimulante			
	Testemunha	TS	T2	TS+T2
	(Nº de perfilhos planta^{-1})			
G1	6,87bcA	5,81cA	11,62aA	11,06abA
G2	10,06aA	8,00aA	9,75aA	7,31aB
DMS (Bioestimulante dentro de Genótipo) = 4,54				
DMS (Genótipo dentro de Bioestimulante) = 3,38				
	(Nº de espigas planta^{-1})			
G1	3,62abA	3,06bA	6,35aA	6,44aA
G2	5,62aA	4,31aA	6,25aA	4,69aA
DMS (Bioestimulante dentro de Genótipo) = 2,82				
DMS (Genótipo dentro de Bioestimulante) = 2,10				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização na iniciação floral), TS+T2 (tratamento de semente + pulverização na iniciação floral). Os genótipos foram G1 (porte normal) e G2 (porte semi-anão).

Navarini (2010) quando aplicou 4 mL kg^{-1} de sementes de bioestimulante na cultivar ‘Safira’ não encontrou resultados significativos para o número de grãos, peso de 1000 grãos e tamanho dos grãos, assim como para a altura, o número de perfilhos e número de espigas; ele explica que o enchimento dos grãos é influenciado pela nutrição das plantas, a solubilidade e mobilidade dos nutrientes, assim como o pH da solução nutritiva utilizada. Não foram encontrados resultados significativos para os diferentes genótipos utilizados, já Lobato et al. (2005) encontraram diferenças significativas para a massa de 100 grãos quando avaliaram 20 diferentes genótipos de trigo com porte normal e anão; eles concluíram que genótipos com maior produção de grãos foram associados com plantas mais altas e com maior massa de 100 grãos.

Para Börner et al. (1997) em experimentos de campo com genótipos contendo gene *Rht* pôde-se notar claramente o efeito pleitrópico positivo no incremento do número de grãos resultando em alta produtividade na maioria das condições ambientais, resultados que não foram encontrados no presente experimento realizado em casa de vegetação.

Tabela 100. Número de grãos por planta, massa de 1000 grãos, área e largura dos grãos de diferentes genótipos de trigo, em função da aplicação do bioestimulante nas sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de vaso.

Tratamento	Nº de grãos	Massa de 1000 grãos	Área dos grãos	Largura dos grãos
	(nº planta^{-1})	(g)	(cm^2 planta^{-1})	(cm planta^{-1})
Testemunha	67,16ab	18,46a	13,32a	2,70a
TS	42,61b	9,70b	6,95b	1,41b
T2	83,78a	14,10ab	11,59a	2,42a
TS+T2	81,67a	20,58a	13,92a	2,85a
DMS	28,0	8,5	4,4	0,9
Genótipos				
G1	63,86a	15,58a	11,20a	2,28a
G2	73,75a	15,84a	11,68a	2,41a
DMS	14,8	4,5	2,3	0,5
CV (%)	29,18	38,9	27,44	30,51
Interação B x G	2,77*	0,70*	0,48*	0,37*

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização na iniciação floral), TS+T2 (tratamento de semente + pulverização na iniciação floral). Os genótipos foram G1 (porte normal) e G2 (porte semi-anão).

Sangoi et al. (2007) avaliando três cultivares de trigo anão, semi-anão e normal observaram incremento na produtividade dos grãos e número de perfilhos nas cultivares anãs e semi-anãs, concordando com Didonet et al. (2000), eles explicaram que o aumento na massa de grãos está associado aos tratos culturais realizados até o florescimento, como por exemplo a disponibilidade de N. McClung (1986) não encontrou resultados significativos para a produção de grãos e concluíram que a presença do gene *Rht* não afetou essa variável.

A produção de grãos é uma característica poligênica de baixa herdabilidade, altamente influenciada pelo ambiente, difícil de melhorar pois não possui genes específicos e devido à ocorrência da interação genótipo x ambiente, a avaliação de genótipos, quanto a essa característica, deve ser feita através instalação de ensaios em vários locais e em diferentes anos (LOBATO, 2006). O mesmo autor explica que a seleção dos componentes de produção como número de espigas e massa de 1000 grãos estão sob controle genético e são

relativamente mais simples o que torna mais eficiente o processo de seleção para o aumento da produtividade, pois pode haver uma correlação positiva entre a produção de grãos e o número de espigas férteis.

Para Börner (1997) experimentos de campo podem explicar mais claramente o efeito pleitrópico positivo no incremento do número de grãos o que resulta em alta produtividade, sob a maioria das condições ambientais; Singh et al. (2001) explicam que alelos *Rht1* e *Rht2* têm vantagem na produção, mas em ambientes favoráveis, pois nas condições semi-áridas eles não têm efeitos, ou possui efeitos negativos, na produtividade.

Mediante desdobramento da interação, quando foi realizado o tratamento de sementes (tratamento TS) foi observado decréscimo em todos os componentes de produção do trigo do genótipo G1; e mesmo no genótipo G2, apesar de resultados não significativos estatisticamente, valores inferiores também foram observados no tratamento TS (Tabela 101). O tratamento de sementes pode ter promovido um desarranjo fisiológico já que plantas cultivadas em ambiente favorável ao seu desenvolvimento não necessita de aplicação de reguladores vegetais e quando utilizado difícil é a identifição dos seus efeitos, sendo necessário a aplicação de algum tipo de estresse para o seu entendimento em diferentes culturas (NAVARINI, 2010).

Entre os genótipos, valores siginificativos e superiores foram encontrados para número de grãos, massa de 1000 grãos, área e largura dos grãos do genótipo G2 em relação ao G1quando foi realizado o tratamento de sementes ou pulverização foliar na iniciação floral, tratamentos TS e T2, respectivamente.

Tabela 101. Número de grãos por planta, massa de 1000 grãos, área e largura dos grãos em diferentes genótipos de trigo em função da aplicação do bioestimulante via tratamento de sementes e/ou pulverização foliar, em experimento de vaso.

Genótipo	Bioestimulante			
	Testemunha	TS	T2	TS+T2
		Nº de grãos		
G1	56,36abA	25,15bB	93,50aA	80,42aA
G2	77,95aA	60,07aA	74,05aA	82,91aA
DMS (Bioestimulante dentro de Genótipo) = 39,58				
DMS (Genótipo dentro de Bioestimulante) = 29,52				
		Massa de 1000 grãos		
G1	20,68aA	7,82bA	12,94abA	20,88aA
G2	16,24aA	11,58aA	15,27aA	20,27aA
DMS (Bioestimulante dentro de Genótipo) = 12,05				
DMS (Genótipo dentro de Bioestimulante) = 8,99				
		Área dos grãos		
G1	13,84aA	5,68bA	11,31abA	13,99aA
G2	12,79aA	8,24aA	11,86aA	13,84aA
DMS (Bioestimulante dentro de Genótipo) = 6,19				
DMS (Genótipo dentro de Bioestimulante) = 4,62				
		Largura dos grãos		
G1	2,76aA	1,13bA	2,36abA	2,89aA
G2	2,64aA	1,69aA	2,48aA	2,81aA
DMS (Bioestimulante dentro de Genótipo) = 1,41				
DMS (Genótipo dentro de Bioestimulante) = 1,05				

Médias seguidas da mesma letra na coluna, em cada época de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns, * e ** são não-significativo e significativos a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente. Os tratamentos foram: Testemunha (sem aplicação de bioestimulante), TS (tratamento de semente), T2 (pulverização na iniciação floral), TS+T2 (tratamento de semente + pulverização na iniciação floral). Os genotipos foram G1 (porte normal) e G2 (porte anão).

Diante do exposto anteriormente, observa-se que nos experimentos realizados em casa de vegetação com a cultura do feijão foi possível observar incrementos no comprimento do caule, número de nódulos, crescimento radicular, no conteúdo de aminoácidos e açúcares solúveis e na atividade da nitrato redutase. Nos experimentos realizados no campo durante duas safras, tratamentos com o bioestimulante na cultura do feijão, via pulverização foliar nos estádios V4 e/ou R5, promoveram incrementos nos teores e

quantidades acumuladas de N, P, S, K, Ca e $N\text{-}NO_3^-$, Fe e B, principalmente nas análises realizadas no estádio R_6. Porém, apesar desses resultados, não foi observado aumento no número de vagens, número ou massa de 100 grãos, assim como incremento na produtividade e teor de proteína dos grãos, tanto na safra “das águas”, quanto na safra “da seca”.

Apesar de resultados não significativos nos experimentos realizados com a cultura do trigo, observou-se influência do bioestimulante na produção de metabólitos como asparagina e S-Me-metionina e, além desses, pôde-se observar incrementos nos níveis de glucose, alanina, prolina, leucina, isoleucina e valina.

No presente trabalho de pesquisa foi possível observar os efeitos do N e bioestimulante, tanto a nível de campo quanto seus efeitos a nível celular, assim como associar os aspectos fenotípicos e genotípicos. As análises realizadas mostraram como o N age no metabolismo da planta, e como pode, em algumas situações, ser influenciado pelas diferentes formas e épocas de aplicação do bioestimulante. Observa-se uma grande variedade nos resultados, além disso, os mesmos não se repetiram ao longo dos experimentos, dessa forma, seria necessário a repetição dos experimentos, tanto em câmaras de crescimento controlado quanto nas diferentes safras, para que ocorresse a comparação entre os mesmos e permitisse maior clareza dos resultados dentro das diferentes épocas do ano.

7 CONCLUSÕES

7.1. Cultura do feijão

Nos experimentos realizados no presente trabalho, o uso do bioestimulante proporcionou incrementos no crescimento radicular, na nodulação, no conteúdo de aminoácidos e açúcares solúveis e na atividade da nitrato redutase, porém, não interferiu de forma expressiva no crescimento da parte aérea, na nutrição, na produtividade e na qualidade dos grãos da cultura do feijão.

A aplicação do bioestimulante não influenciou a nutrição nitrogenada e a eficiência agronômica do N aplicado na cultura do feijão, assim como não afetou o metabolismo do N nas culturas do feijão.

7.2. Cultura do trigo

O bioestimulante não promoveu acréscimos no crescimento, nos teores de N e C da parte aérea, na produção de metabólitos e nos componentes da produção da cultura do trigo nos experimentos realizados no presente trabalho.

Aplicação do bioestimulante, nas condições do presente trabalho, não afetou o metabolismo do N na cultura do trigo.

8 REFERÊNCIAS

ABRANTES, F. L. **Efeito de bioestimulante sobre a produtividade e qualidade fisiológica de dois cultivares de feijão cultivados no inverno**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia, Ilha Solteira.

ALLEONI, B. et al. Efeito dos reguladores vegetais de Stimulate® no desenvolvimento e produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharia**, Ponta Grossa, n. 6, n. 1, p. 23-35, 2000.

ALMEIDA, A. Q. et al. Efeito da aplicação de bioestimulante, cálcio e boro via foliar na produtividade e qualidade de sementes de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO–CONAFE, 9., 2008, Campinas. **Documentos IAC**. Campinas : Instituto Agronômico, 2008.

ALMEIDA, M. L. et al. Cultivares de trigo respondem diferentemente à qualidade da luz quanto à emissão de afilhos e acumulação de massa seca. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3, p.377-383, 2002.

ALVARENGA, A. R. et al. Efeito de doses de nitrogênio aplicadas no solo e níveis de cálcio aplicados via foliar sobre o teor e o acúmulo de micronutrientes em alface americana. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 905-916, 2000.

ALVAREZ, A. C. C. et al. Resposta do feijoeiro a aplicação de doses e fontes de nitrogênio em cobertura no sistema de plantio direto. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 69-75, 2005.

AMBROSANO, E. J. et al. Feijão. **Boletim Técnico Instituto Agronômico,** Campinas, n. 100, p. 189-195,1996. 2. ed.

ANDRADE, M. J. B. et al. Influência do nitrogênio, rizóbio e molibdênio sobre o crescimento, nodulação radicular e teores de nutrientes no feijoeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 45, n. 257, p. 65-79, 1998.

ANDRADE, M. J. B. et. al. Resposta da cultura do feijoeiro à aplicação foliar de molibdênio e às adubações nitrogenadas de plantio e cobertura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n. 4, p. 499-508, 1998.

ANDRADE, M. J. B. et al. Teores de micronutrientes no feijoeiro em função de nitrogênio e fósforo. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 13., 2005, Goiânia, 2005. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/conafeviii/pdf/conafe2005-0305.pdf>. Acesso em: 07 abr. 2011.

ANDREOTTI, M. et al. Fontes de nitrogênio e modos de adubação em cobertura sobre a produtividade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) na "safra das águas". **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 4, p. 595-602, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 15. ed. Arlinton, 1984. 679 p.
ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 15 ed. Arlinton, 1990. 684 p.

ARAÚJO, G. A. de A.; FERREIRA, A. C. de B. **Manejo do solo e plantio**. In: VIEIRA, C. et al. **Feijão**. Viçosa: Ed. UFV, 1996. p. 87-114.

ARCARO, T. F. et al. Desempenho produtivo de dois genótipos de feijão sob influência de ácido giberélico. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2008. 1 CD-ROM.

ARF, O. et. al. Manejo do solo, água e nitrogênio no cultivo de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, p. 131-138, 2004.

ARTECA, R. N. **Plant growth substances**: principles and applications. New York: Chapman & Hall, 1996. 332 p.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 236 p.

BARBOSA, R. et al. Produção de sementes de feijoeiro em função da aplicação de bioestimulante e doses de uréia. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO. CAMPINAS, 9., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2008. 1 CD-ROM.

BARBOSA, G. F. et al. Nitrogênio em cobertura e molibdênio foliar no feijoeiro de inverno. **Acta Scientiarum.Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 117-123, 2010.

BEHREND, J.; MATELES, R. I. Nitrogen Metabolism in Plant Cell Suspension Cultures - Effect of amino acids on growth. **Plant Physiology,** Waterbury, v. 56, n. 5, p. 584-589, 1975.

BERTOLIN, D. C. **Produção e qualidade de sementes de soja convencional e geneticamente modificada em relação à aplicação via sementes e foliar de produto bioestimulante**. 2008. 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Estadual de São Paulo, Ilha Solteira, 2008. 71 p.

BERTOLIN, D. C. et al. Efeito de bioestimulante no teor e no rendimento de proteína de grãos de soja. **Agrarian**, Dourados, v. 1, n. 2, p. 23-34, 2008.

BINOTTI, F. F. S. **Manejo do nitrogênio no feijoeiro de inverno em sucessão a milho e *Brachiaria* em sistema de plantio direto**. 2009. 178 f. Tese (Doutorado em Agronomia / Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009.

BLEVINS, D. G.; LUKASZEWSKI, K. M. Boron in plant structure and function. **Annual Reviewof Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, n.6, p. 481–500, 1998.

BOARO, C. S. F. et al. Magnésio e micronutrientes metálicos durante o desenvolvimento de feijoeiro, em solução nutritiva. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 212-218, 1999.
BOUCHÉ, N.; FROMM, H. GABA in plants: just a metabolite? **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, n. 3, p.110-115, 2004.

BRESSANI, R. et al. Posibles relaciones entre medidas físicas, químicas y nutricionales en frijol comun (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion,** Caracas, v. 31, n. 3, p. 550-570, 1989.

BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H. J. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, Kusterdingen, v.159, n. 6, p. 567– 584, 2002.

BÖRNER, A. Comparative molecular mapping of GA insensitive *Rht* loci on chromosomes 4B and 4D of common wheat (*Triticum aestivum* L .) **Theory Applied for Genetic**, Berlin, v. 95, n. 7, p. 1133-1137, 1997.

CALDAS, L. S. et al. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCTP; Embrapa CNPH, 1990. p. 37-70.

CAMARGO, P. C. E. de O. Comportamento de cultivares de trigo em solos de várzea do Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 33, n. único, p. 65-73, 1974.

CAMPOS, M. F. de. et al. Análise de crescimento em plantas de soja tratadas com substâncias reguldoras. **Biotemas**, Florianopólis, n. 21, v. 3, p. 53-63, 2008.

CARVALHO, M. A. C. et al. Época de aplicação e níveis de nitrogênio na cultura do feijão em semeadura direta. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 25.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 8., SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 6., REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2000, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBCS, 2000. 1 CD-ROM.

CARVALHO, S. A. et al. Efeito do KNO_3 nos teores de macronutrientes e na massa seca total de porta-enxertos cítricos roduzidos em bandejas. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 89-94, 2000.

CARVALHO, M. A. C. et al. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio e teores foliares deste nutriente e de clorofila em feijoeiro**. Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n. 3, p. 445-450, 2003.

CASTRO, P. R. C. Algumas aplicações agrícolas dos reguladores de crescimento. **Atualidades Agronômicas**, Piracicaba, v. 3, p. 52-56, 1973.

CASTRO, P. R. C.; MELOTTO, E. Bioestimulante e hormônios aplicados via foliar. In: BOARETO, A. E.; ROSOLEM, C. A. (Ed.). **Adubação foliar**. Campinas: Fundação Cargill, 1989. v. 1, cap. 8, p. 191-235.

CASTRO, P. R. C. et al. Ação de reguladores vegetais no desenvolvimento, aspectos nutricionais, anatômico e na produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) cv. carioca. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v. 47, n. 1, p. 11-28, 1990.

CASTRO, P. R. C. **Utilização de reguladores vegetais na fruticultura, na horticultura e em plantas ornamentais**. Piracicaba: ESALQ/DIBD, 1998. 92 p.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. **Ecofisiologia de cultivos anuais:** trigo, milho, soja, arroz e mandioca. São Paulo: Nobel, 1999. 126 p.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 132 p.

CASTRO, P. R. C. et al. Ação de bioestimulantes em feijoeiro (Phaseolus vulgaris CV. IAC – Carioca Tybatã). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 79, n. 2, p. 215-226, 2004.

CASTRO, P. R. C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: Potafos, 2006. p. 46. (Série Produtor Rural, 32).

CATE, C. H. H.; BRETELER, H. Effect of plant growth regulators on nitrate utilization by roots of nitrogen-depleted dwarf bean. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 37-46, 1982.

CATO, S. C. **Ação de bioestimulante nas culturas do amendoinzeiro, sorgo e trigo e interações entre auxinas, citocininas e giberelinas**. 2006. 73 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

CEVALLOS-CEVALLOS, J. M. et al. Metabolomic analysis in food science: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 20, n. 11-12, p. 557-566, 2009.

CHANDA, S. V. et al. Influence of plant growth regulators on some enzymes of nitrogen assimilation in mustard seedlings. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 21, n. 8, p. 1765-1777, 1998.

CHATFIELD, J. M.; ARMSTRONG, D. J. Cytokinin oxidase from Phaseolus vulgaris callus tissues – Enhanced in vitro activity of the enzyme in the presence of copper-imidazole complexes. **Plant Physiology**, **Plant Physiology**, Waterbury, v. 84, n. 3, p. 726-731, 1987.

CHIDI, S. N. et al. Nitrogênio via foliar e em cobertura em feijoeiro irrigado. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1391-1395, 2002.

CHOW, F. Characterization of nitrate reductase activity *in vitro* in *Gracilaria caudate* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n. 1, p.123-129, 2007.

CLEALAND, R. E. Effect of auxin upon loss of calcium from cell walls. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 35, n. 5, p. 581-587, 1960.

CLEALAND, R. E.; RAYLE, D. L. Reevaluation of the effect of calcium ions on auxin-induced elongation. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 60, n. 5, p. 709-712, 1977.

COBUCCI, T.; WRUCK, F. J. (Ed.). **Resultados obtidos na área pólo de feijão no período de 2002 a 2004**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 107 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 174).

COBUCCI, T. et al. Efeitos de reguladores vegetais aplicados em diferentes estágios de desenvolvimento do feijoeiro comum. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2008. 1 CD-ROM.

COELHO, F. C. et al. Nitrogênio e molibdênio nas culturas do milho e do feijão, em monocultivos e em consórcio: I – Efeitos sobre o feijão. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 260, n. 45, p. 393-407, 1998.

COELHO, M. A. O. et al. Resposta na produtividade de grãos e outras características agronômicas do trigo EMBRAPA-22 irrigado ao nitrogênio em cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, p. 555-561, 1998.

COLL, J. B. et al. **Fisiologia vegetal.** Madrid: Ediciones Pirámide, 2001. 566 p.

CONSELHO NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Brasil). **Comparativo da área**, **produção e produtividade**: série histórica. Brasília, DF, 2011. Disponível em:<http://www.conab.gov.br/safras.asp> Acesso em: 30 ago. 2011.

COSTA, R. C. L. et al. Efeito da água e do nitrogênio sobre a fotossíntese, respiração e resistência estomática em *Phaseolus vulgaris*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, p. 1371-1379, 1988.

CRUSCIOL, C. A. C. et al. Fontes e doses de nitrogênio para o feijoeiro em sucessão a gramíneas no sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 1545-1552, 2007.

DA ROS, C. O. et al. Disponibilidade de nitrogênio e produtividade de milho e trigo com diferentes métodos de adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p.799-804, 2003.

DEL PELOSO, M. J. et al. Cultivo irrigado em terras altas. In: ARAÚJO, R. S. et al. (Ed.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFÓS, 1996. p. 571-588.

DELA FUENTE, R. K.; LEOPOLD, A. C. A Role for Calcium in Auxin Transport. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 51, n. 5, p. 845-847, 1973.

DHILLON, S. J. Influence of varied phosphorus supply on growth and xylem sap cytokinin level of sycamore (*Platanus occidentalis* L.) seedlings. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 61, n. 4, p. 521-524, 1978.

DIDONET, A. D. et al. Realocação de nitrogênio e de biomassa para os grãos, em trigo submetido à inoculação de *Azospirillum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 2, p. 401-411, 2000.

DINIZ, A. R. **Resposta da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) à aplicação de nitrogênio (semeadura e cobertura) e de doses de molibdênio foliar.** 1995. 60 p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DYAR, J. J.; WEBB, K. L. A relationship between boron and auxin in C^{14} translocation in bean plants. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 36, n. 5, p. 672-676, 1961.

ELLIS, M. H. et al. Molecular mapping of gibberellin-responsive dwarfing genes in bread wheat. **Theoretical and Applied Genetic**, Berlin, v.111, n. 3, p. 423-430, 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos**. Brasília: Embapa STI, 2006. 412 p.

FAGERIA, V. D. Nutrient interactions in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24, p.1269-1290, 2001.

FAGERIA, N. K.; STONE, L. F. Produtividade de feijão no sistema plantio direto com aplicação de calcário e zinco**. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.1, p. 73-78, 2004.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de feijão**. Piracicaba: Livroceres, 2007. 386 p.

FARINELLI, R. **Resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) à adubação nitrogenada de cobertura em dois sistemas de manejo do solo**. 2003. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2003.

FARINELLI, R. F. et al. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijão em função de sistemas de manejo de solo e adubação nitrogenada. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 28, n. 2, p.102-109, 2006.

FERNANDES, F. L. **Efeito de nitrogênio e de potássio na interação entre *Coccus viridis* e *Coffea arabica***. 2007. 48 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa,Viçosa, MG, 2007.

FERNANDES, D. F. et al. Produtividade e qualidade fisiológica de sementes de feijão em conseqüência da aplicação foliar de manganês. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, DF, v. 42, n. 3, p. 419-426, 2007.

FERNANDEZ, F. et al. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol** *(Phaseolus vulgaris L.)*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1986. 34 p.

FERREIRA, A. C. de B. et al. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.

FERREIRA, L. A. et al. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p.80-89, 2007.

FISHER, D. B.; MACNICOL, P. Amino acid composition along the transport pathway during grain filling in wheat. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 82, n. 4, p.1019-1023, 1986.

FOYER, F. et al. Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 117, n. 1, p. 283-292, 1998.

FURLANI JÚNIOR, E. et al. Correlação entre leituras de clorofila e níveis de nitrogênio aplicados em feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n. 1, p. 171-155, 1996.

GAMBORG, O. L.; SHYTUK J. P. The culture of plant cells with ammonium salts as the sole nitrogen source. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 45, n. 5, p. 598-600, 1970.

GUERRA, A. F. et al. Manejo de irrigação e fertilização nitrogenada para o feijoeiro na região dos cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, n. 6, p. 1229-1236, 2000.

GIANQUINTO, G. et al. Interaction effects of phosphorus and zinc on photosynthesis, growth and yield of dwarf bean grown in two environments. **Plant and Soil,** Berlin, v. 220, n. 1-2, p. 219-228, 2000.

HAMADA, E.; PINTO, H.S. Avaliação do desenvolvimento do trigo utilizando medidas radiométricas em função de graus-dia. In: In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO (SBSR), FÓZ DO IGUAÇU, 10., 2001, Fóz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Abril, 2001. p. 95-101.

HARB, E. Z. Effect of soaking seeds in some growth regulators and micronutrients on growth, some chemicals constituints and yield of taba beans and cotton plants. **Bulletin of Faculty of Agriculture of Cairo University**, Cairo, v. 3, n. 1, p. 429-452, 1992.

HEDDEN, P. The genes of the Green Revolution. **Trends in Genetics**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 5-9, 2003.

HEENAN, D. P.; CAMPBELL, L. C. Soybean nitrate reductase activity influenced by manganese nutrition. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 731-736, 1980.

HIGASHI, E. N. et al. Ação fisiológica de hormônios vegetais na condição hídrica, metabolismo e nutrição mineral. In: CASTRO, P. R. C. et al. Assimilação do nitrogênio pelo feijoeiro. II. Absorção e translocação do N mineral e do № fixado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 9, n. 1, p. 201-209, 1985.

HIRAKI, S. S. et al. Adubação nitrogenada e concentração de micronutrientes no algodoeiroem função do manejo da fitomassa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7., 2009, Foz do Iguaçu. Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/cba7/VIICBA_anais/SNP_P.094(1892-1899).pdf >. Acesso em: 13 abr. 2011.

JARVIS, B.C. et al. Auxin and boron in relation to the rooting response and ageing of mung bean cuttings. **New Phytologist**, Oxford, v. 95, n. 4, p. 509-518, 1983.

JARVIS, B.C. et al. The interaction between auxin and boron an adventitious root development. **New Phytologist,** Oxford, v. 97, n. 2, p.197-204, 1984.

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

KABAT, E. A.; MAYER, M. M. **Experimental immunochemistry.** Springfield: C.C. Thomas, 1967. p. 560-563.

KAISER, W.; HUBER, S. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 363, p.1881-1989, 2001.

KANEKO, F. H. et al. Mecanismos de abertura de sulcos, inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro em sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n.1, p.125-133, 2010.

KIKUTI, H. et al. Teores de macronutrientes no feijoeiro em função de nitrogênio e de fósforo. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, GOIÂNIA, 8., 2005, Goiânia, **Anais...** Embrapa: Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão, 2005. Disponível em: < http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/pdf/conafe2005-0237.pdf>. Acesso em: 07 fev. 2010.

KIKUTI, H. et al. Teores de macronutrientes na parte aérea do feijoeiro em função de doses de nitrogênio e fósforo. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 2, p. 347-354, 2006.

KLAHOLD, C. A. et al. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 179-185, 2006.

KLUTHCOUSKI, J. et al. **Sistema Santa Fé**: tecnologia Embrapa: integração lavoura-pecuária pelo consórcio de culturas anuais com forrageiras, em áreas de lavoura, nos sistemas direto e convencional. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 28 p. (Circular Técnica, 38).

KONNERUP, D.; BRIX, H. Nitrogen nutrition of Canna indica: Effects of ammonium versus nitrate on growth, biomass allocation, photosynthesis, nitrate reductase activity and N uptake rates. **Aquatic Botany**, Maryland, v. 92, n. 2, p. 142–148, 2010.

KOSENKO, L. V. et al. The Effect of the plant growth stimulant bactozole on *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae and its nitrogen-tolerant mutant m-71 under different nitrogen supply conditions. **Microbiology,** Reading, v. 72, n. 1, p. 30–36, 1993.

KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soil**. San Diego: Academic Press, 1995. 485 p.

KUDOYAROVA, G. R. et al. Comparison of the effects of nitrate and ammonium forms of nitrogen on auxin content in roots and the growth of plants under different temperature conditions. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 23, n. 3, p.207–208, 1997.

LANA, A. M. Q. et al. Aplicação de reguladores de crescimento na cultura do feijoeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 1, p. 13-20, 2009.

LANE, D. R.; BASSIRIRAD, H. Differential responses of tallgrass prairie species to nitrogen loading and varying ratios of NO_3^- to NH_4^+. **Functional Plant Biology,** Collingwood, v. 29, n. 10, p. 1227- 1235, 2002.

LEMOS, L. B. et al. Características agronômicas e tecnológicas de genótipos de feijão do grupo comercial Carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, n. 4, p. 319-326, 2004.

LI, Q. M. et al. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (Passiflora incarnata). **Journal of Chromatography: Biomedical Applications**, Amsterdam, v. 562, n. 1/2, p. 435-446, 1991.

LIMA, M. M. et al. Nitrogênio e promotor de crescimento: efeitos no crescimento e desenvolvimento do algodão colorido verde. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, p. 624-628, 2006a.

LIMA, M. M. et al. Níveis de adubação nitrogenada e bioestimulante na produção e qualidade do algodão BRS verde. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, p. 619-623, 2006b.

LOBATO, M. V. T. Desempenho de linhagens de trigo mexicanas, em condições de irrigação por aspersão no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 215-224, 2005.

LOBATO, M. T. V. **Desempenho agronômico de genótipos de trigo em diferentes regiões do Estado de São Paulo**. 2006. 180 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2006.

LUCHESE, E. B.; FAVERO, L. O. B.; LENZI, E. **Fundamentos da química do solo**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 2001. 182 p.

LUKATKIN, A. S. et al. Cytokinin-like growth regulators mitigate toxic action of zinc and nickel ions on maize seedlings. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 54, n. 3, p. 381-387, 2007.

MAIA, S. C. M. **Uso do clorofilômetro portátil na determinação da adubação nitrogenada de cobertura em cultivares de feijoeiro**. 2011. 92 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu.

McKENZIE, M. J. et al. Controlled cytokinin production in transgenic tobacco using a copper-inducible promoter. **Plant Physiology**, v. 116, p. 969-977, 1998.

MALAGOLI, M. et al. Differences in nitrate and ammonium uptake between Scots pine and European larch. **Plant and Soil**, Berlin, v. 221, n. 1, p. 1-3, 2000.

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

MALAVOLTA, E. et al . **Avaliação do estado nutricional de plantas**: princípios e aplicações. Piracicaba: Potafós, 1997. 308 p.

MALTA, M. R. et al. Composição química, produção e qualidade do café fertilizado com diferentes fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1246-1252, 2003.

MANN, A. F. et. al. Sources of reducing power for nitrate reduction in Spinach leaves. **Planta**, Berlin, v. 140, n. 3, p. 261-263, 1978.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academy Press, 1995.

MATHESIUS, U. Auxin: at the root of nodule development? **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 35, n. 8, p. 651–668, 2008.

McCLUNG, A. M. et al. Influence of the *Rth1* semi dwarf gene on yield, yield components, and grain protein in durum wheat. **Crop Science**, Madison, v. 26, n. 6, p. 1095-1099, 1986.

MEGDA, M. M. et al. Respostas de cultivares de trigo ao nitrogênio em relação as fontes e épocas de aplicação sob plantio direto e irrigação por aspersão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1055-1060, 2009.

MENDES, M. C. **Biorreguladores:** tecnologia para aumento da produtividade. Dia de Campo on line. Disponível em: <http://www.diadecampoonline.com.br/biorreguladores-uma-nova-tecnologia-para-o-aumento-de-produtividade>. Acesso em: 31 mar. 2011.

MILLÉO, M. V. R. et al. Avaliação da eficiência agronômica do produto stimulate aplicado no tratamento de sementes e no sulco de plantio sobre a cultura do milho (*Zea mays* L.). **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v. 7 (supl.), p. 145, 2000.

MILLÉO, M. V. R.; ZAGONEL, J. **Avaliação da eficácia agronômica de diferentes doses e formas de aplicação de Stimulate® na cultura do feijão**. Laudo Técnico de Praticidade e Eficácia Agronômica. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2002. 186 p.

MIRALLES, D. J. et al. Rooting patterns in nearisiogenic lines of spring wheat for dwarfism. **Plant and Soil**, Berlin, v. 197, n. 1, p. 79-86, 1997.

MODESTO, J. M. et al. Efeito do ácido giberélico sobre o comprimento e diâmetro do caule de plântulas de limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 2/3, p. 332-337, 1996.

MORGAN, P. W. et al. Manipulation of IAA-oxidase activity and auxin-deficiency symptoms in intact cotton plants with manganese nutrition. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v. 37, n. 2, p. 149-156, 2006.
MUANGPROM, A. et al. A novel dwarfing mutation in a Green Revolution gene from *Brassica rapa*. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 137, n. 3, p. 931-938, 2005.

MUNDSTOCK, C. M.; BREDEMEIER, C. Dinâmica do afilhamento afetada pela disponibilidade de nitrogênio e sua influência na produção de espigas e grãos em trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 26, p. 141-149, 2002.

MUNZAROVA, E. et al. Effect of NH_4^+/NO_3^- availability on nitrate reductase activity and nitrogen accumulation in wetland helophytes *Phragmites australis* and *Glyceria máxima.* **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 55, n. 1/2, p. 49-60, 2006.

NA, T. et al. The effects of dwarfing genes (*Rht-B1b*, *Rht-D1b*, and *Rht8*) with different sensitivity to GA_3 on the coleoptile length and plant height of wheat. **Agricultural Sciences in China**, Beijing, v. 8, n. 9, p. 1028-1038, 2009.

NAKAGAWA, H. et al. Overexpression of a petunia zinc finger gene alters cytokinin metabolism and plant forms. **The Plant Journal**, Malden, v. 41, n. 4, p. 512-523, 2005.

NAVARINI, L. L. **Manejo do solo e utilização de bioestimulantes na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.).** 2010. 85 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 3. ed. New York: Worth Publishers, 2000. 1152 p.

OLIVEIRA, I. P. et al. Nutrição mineral e fixação biológica de nitrogênio. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 1996. p. 169-221.

OLIVEIRA, R. F. et al. Produção e estado nutricional do feijoeiro em função da aplicação de um promotor de crescimento. **Científica**, Jaboticabal, v. 26, n. 1/2, p. 203-212, 1998.

PACE, G. et al. Nitrate reduction in response to CO_2-limited photosynthesis: Relationship to carbohydrate supply and nitrate reductase activity in maize seedlings. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 92, n. 2, p.286-292, 1990.

PENG, J. et al. 'Green Revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. **Nature**, London, v. 400, n. 6741, p. 256-261, 1999.

PEREZ, A. A. G. **Nitrogênio na semeadura e em cobertura para o feijoeiro em sistema plantio direto em fase de implantação e consolidado.** 2010**.** 81 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2010.

PELEGRIN, R. et al. Resposta da cultura do feijoeiro à adubação nitrogenada e à inoculação com rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do solo,** Viçosa, v. 33, n. 1, p. 219-226, 2009.

POMPEU, A. S. Feijão. In: FURLANI, A. M. C.; VIÉGAS, G. P. (Ed.). **O melhoramento de plantas no Instituto Agronômico**. Campinas: Instituto Agronômico, 1993. p. 111-155.
PORTES, T. A. Ecofisiologia. In: ARAÚJO, R. S. et al. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 1996. p. 101-137.

QUILOT, B. et al. Analysis of genotypic variation in fruit flesh total sugar content via an ecophysiological model applied to peach. **Theoretical and Applied Genetic**, Berlin, v. 109, n. 2, p. 440–449, 2004.

RAIJ, B. van. et al. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 284 p.

REBETZKE, G. J. et al. Longer coleoptiles improve emergence through crop residues to increase seedling number and biomass in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant and Soil,** Berlin, v. 272, n. 1/2, p. 87-100, 2005.

RODRIGUES, J. R. M. **Resposta do feijoeiro (cvs. Carioca e Pérola) a doses de nitrogênio e fósforo.** 2001. 124 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

ROSOLEM, C. A. **Nutrição e adubação do feijoeiro**. Piracicaba: Potafós, 1987. 93 p. (Boletim Técnico, 8)

ROSOLEM, C. A.; NAKAGAWA, J. Deficiência de manganês em soja induzida por adubação potássica e calagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 6, p. 833-836, 1990.

RUIZ, J. M. et al. Nitrogen metabolism in peper plants with different biorregulators. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 48, n. 7, p. 2925-2929, 2000.

RYLE, G. J. A.; HESKETH, J. D. Carbon dioxide uptake in nitrogendeficient plants. **Crop Science**, Madison, v. 9, n. 4, p. 451-454, 1969.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Absorption of mineral salts**. In: In: PHILP, N. G. **Plant physiology**. Belmont: Wadsworth, 1992. p. 136-160.

SANGOI, L. et al. Características agronômicas de cultivares de trigo em resposta à época da adubação nitrogenada de cobertura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1564-1570, 2007.

SANTOS, A. B. et al. Resposta do feijoeiro ao manejo de nitrogênio em várzeas tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 11, p. 1265-1271, 2003.

SANTOS, M. L. et al. Teor de proteína bruta em sementes de cafeeiro submetidos a doses crescentes de nitrogênio. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 2005, Londrina. **Anais**... Londrina: Embrapa Café, 2005. v. 4. Disponível em: <http://www.sbicafe.ufv.br/handle/10820/1619>. Acesso em: 30 ago. 2011.

SCHEIBLE, W. R. et. al. Accumulation of nitrate in shoot acts as a signal to signal shoot-root allocation in tobacco. **The Plant Journal**, Malden, v. 11, n. 4, p. 671-691, 1997.

SCHLOERRING, J. K. et al. The Regulation of ammonium translocation in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 370, p. 883-890, 2002.

SGARBIERI, V. C. Composição e valor nutritivo do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). In: BULISANI, E. A. (Coord.). **Feijão:** fatores de produção e qualidade. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 430 p.

SHU-QING, C. et al. The involvement of cytokinin and abscisic acid levels in roots in the regulation of photosynthesis function in flag leaves during grain filling in super high-yielding rice (*Oryza sativa*). **Journal Agronomy and Crop Science**, Braunschweig, n. 190, p. 73-80. 2004.

SIDDIQUE, H. M. et al. Root:shoot ratios of old and modern, tall and semi-dwarf wheats in a Mediterranean environment. **Plant and Soil**, Berlin, v. 121, n. 1, p. 89-98, 1990.

SILVA, E. F. da. **Efeito da adubação nitrogenada sobre a variação estacional das frações nitrogenadas, atividade da nitrato redutase e carboidratos solúveis em cana de açúcar (Saccharum spp, cv. NA 56-79), em condições de campo**. 1989. 163p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1989.

SILVA, C. C. **Influência de sistemas agrícolas em características do solo e na resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigação à adubação nitrogenada em cobertura**. 1998. 116 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1998.

SILVA, T. R. B. **Adubação nitrogenada e resíduos vegetais no desenvolvimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em sistema de plantio direto**. 2002. 56 p. Dissertação (Mestrado / Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2002.

SILVA, M. P. et al. Efeito de doses e de épocas de aplicação de bioestimulante sobre a produção de sementes de feijoeiro em plantio direto. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2008. 1 CD-ROM.

SILVA, E. F. et al. Inoculação do feijoeiro com *Rhizobium tropici* associada à exsudato de *Mimosa flocculosa* com diferentes doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 2, p. 443-451, 2009.

SILVA, J. I. C. et al. Uso de estimulantes de crescimento radicular associado a doses de fósforo na cultura do feijoeiro. **Agrarian,** Dourados, v. 2, n. 5, p. 47-62, 2009.

SILVA, M. P. **Espaçamentos entrelinhas e doses de nitrogênio em dois cultivares de feijoeiro irrigado no sistema plantio direto**. 2010. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010.

SILVA, R. A. **Análise metabolômica e atividade biológica de *Piper reticulatum* L**. 2011. 150 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2011.

SILVEIRA, P. M.; DAMASCENO, M. A. Doses e parcelamento de K e de N na cultura do feijoeiro irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 11, p. 1269-1276, 1993.

SINGH, R. P. et al. Grain yield and other traits of tall and dwarf isolines of modern bread and durum wheats. **Euphytica**, Wageningen, v. 119, n. 1-2, p. 241-244, 2001.

SOMERS, A. et al. Synthesis and Degradation of Barley Nitrate Reductase. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 72, n. 4, p. 949-952, 1983.

SORATTO, R. P. et al. Feijoeiro irrigado e aplicação de nitrogênio em cobertura e molibdênio via foliar. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 9, n. 1, p. 115-132, 2000.

SORATTO, R. P. et al. Teor de clorofila e produtividade do feijoeiro em razão da adubação nitrogenada. **Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, n. 9, p. 895-901, 2004.

SORATTO, R. P. et al. Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em plantio direto. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 211-218, 2005.

SORATTO, R. P. et al. Nitrogênio em cobertura no feijoeiro cultivado em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 259-266, 2006.

SORATTO, R. P.; CRUSCIOL, C. A. C. Dolomite and phosphogypsum surface application effects on annual crops nutrition and yield. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, n. 2, p. 261-270, 2008.

SOUZA, E. de F. C. de. **Adubação nitrogenada e inoculação com rizóbio no feijoeiro em sucessão ao milho consorciado com braquiárias no sistema plantio direto**. 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2010.

SRIVASTAVA, H. S. et al. Cytokinins affect the response of greening and green bean leaves to nitrogen dioxide and nutrients nitrate supply. **Journal of Plant Physiology**, Kusterdingen, v. 144, n. 2, p. 156-160, 1994.

STONE, L. F.; MOREIRA, J. A. A. Resposta do feijoeiro ao nitrogênio em cobertura, sob diferentes lâminas de irrigação e preparos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 3, p. 473-481, 2001.

STONIER, T. et al. Studies on Auxin Protectors. IV. The Effect of Manganese on Auxin Protector-I of the Japanese Morning Glory. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 43, n. 1, p. 69-72, 1968.

SUBBIAH, B. V. et al. Preliminary investigations on root distribution of high yielding wheat varieties. **International Journal of Applied Radiation and Isotopes**, Oxford, v.19, n. 4, p. 385-390, 1968.

SUMMER, L.W. et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis. **Metabolomics**, New York, v. 3, n. 3, p. 211-221, 2007.

SYLVESTER-BRADLEY, R. et al. Dynamics of nitrogen capture without fertilizer: the baseline for fertilizing winter wheat in the UK. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 136, n. 1, p. 15-33, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

TAKAHASHI, N. et al. Gibberellins. In: TAKAHASHI, N. (Ed.). **Chemistry of plant hormones**. Boca Raton: CRC, 1988. p. 57-151.

TEDESCO, M. J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. 188 p. (Boletim técnico, 5).

TEIXEIRA FILHO, M. C. M. et al. Resposta de cultivares de trigo irrigados por aspersão ao nitrogênio em cobertura na região do Cerrado. **Acta Scientiarum.Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 421-425, 2007.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M. **Doses, fontes e épocas de aplicação do nitrogênio em cultivares de trigo sob plantio direto no Cerrado**. 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2008.

TEIXEIRA, I. R. **Comportamento do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L. cv. Pérola) submetido a diferentes densidades de semeadura e níveis de adubação nitrogenada.** 1998. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TEIXEIRA, I. R. et al. Resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Pérola) a diferentes densidades de semeadura e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 399-408, 2000.

TEIXEIRA, C. M. et al. Palhadas e doses de nitrogênio no plantio direto do feijoeiro. **Acta Scientiarum.Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 499-505, 2005.

TEIXEIRA, C. M. et al. Produtividade e teores foliares de nutrientes do feijoeiro sob diferentes palhadas e doses de nitrogênio em semeadura direta. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 123-130, 2008.

TEIXEIRA, C. M. et al. Nutrição mineral do feijoeiro em influência de nitrogênio e palhadas de milheto solteiro e consorciado com feijão-de-porco. **Acta Scientiarum.Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 511-519, 2010.

TENNANT, D. A. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 63, p. 995-1001, 1975.

THOMAS, J. C. et al. Cytokinin and the regulation of a tobacco metallothionein-like gene during copper stress. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v. 123, n. 3, p. 262-261, 2005.

VELLINI, E. D.; ROSOLEM, C. A. **Eficiência agronômica do Stimulate**. Relatório Técnico**.** Botucatu**:** UNESP, 1997. 8 p.

VIANA, E. M.; KIEHL, J de C. Doses de nitrogênio e potássio no crescimento do trigo. **Bragantia,** Campinas, v. 69, n. 4, p. 975-982, 2010.
VIEIRA, E. L.; MONTEIRO, C.A. Hormônios vegetais. In: CASTRO, P. R. C.; SENA, J. O. A.; KLUGE, R. A. (Ed.). **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Eduem, 2002. p. 79-104.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Ação de bioestimulante na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Feijão irrigado**: tecnologia e produtividade. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Produção Vegetal, 2003. p. 73-100.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. **Ação de bioestimulante na cultura da soja (Glycine max L. Merrill)**. Cosmópolis: Stoller do Brasil, 2004. 47 p.

VILLAS BÔAS, L. de B., **Estudo dos constituintes químicos ansiolíticos e sedativos de *Passiflora actínia* Hook., Passifloraceae**. 2007. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Curitiba.

WAINES, J.; EHDAIE, B. Domestication and crop physiology: Roots of Green-Revolution wheat. **Annals of Botany**, London, v. 100, n. 5, p. 991-998, 2007.

WARD, J. et al. Recent applications of NMR spectroscopy in plant. **FEBS Journal**, Oxford, v. 274, n. 5, p. 1126-1131, 2007.

WARD, J. et al. An inter-laboratory comparison demonstrates that [1H]-NMR metabolite fingerprinting is a robust technique for collaborative plant metabolomic data collection. **Metabolomics**, New York, v. 6, n. 2, p. 263-273, 2010.

WESTERMANN, D. T. et al. Nitrogen sources for bean seed production. **Agronomy Journal**, Madison, v. 73, n. 4, p. 660-664, 1981.

WOJCIECHOWSKI, T. et al. The effects of dwarfing genes on seedling root growth of wheat. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 9, p.2565-2573, 2009.

WYLLYAM do VALE, D. et al. Resposta do porta-enxerto de lomoeiro 'Citrumelo' à aplicação de nitrogênio, fósforo e potássio. **Journal Soil Science and Plant Nutrition**, Tharandt, v. 8, n. 4, p. 40-48, 2008.

XIAO-PING, S.; XI-GUI, S. Cytokinin- and auxin-induced stomatal opening is related to the change of nitric oxide levels in guard cells in broad bean (*V. faba* L.). **Physiologia Plantarum**, Sweden, n. 128, n. 3, p. 569–579, 2006.

XIE, Z. et al. Effects of exogenous ABA and cytokinin on leaf photosynthesis and grain protein accumulation in wheat ears cultured in vitro. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 44, n. 1, p. 25-32, 2004.

YANG, T.; POOVAIAH, B. W. Molecular and Biochemical Evidence for the Involvement of Calcium/Calmodulin in Auxin Action. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 275, n. 5, p. 3137–3143, 2000a.

YANG, J. et al. Grain filling pattern and cytokinin content in the grains and roots of rice plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 30, n. 3, p. 261-270, 2000b.

YANG, G. et. al. *OsCDPK13*, a calcium-dependent protein kinase gene from rice is induced in response to cold and gibberellins. **Plant Physiology and Biochemistry**, Missouri, v. 41, n. 4, p.369-374, 2003.

This document was created with Win2PDF available at http://www.win2pdf.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.