

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
NÍVEL MESTRADO

**EMIÇÃO DE FLUORESCÊNCIA E PRODUÇÃO DE MASSA
SECA EM FEIJÃO E SOJA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE
NITROGÊNIO EM COBERTURA**

Maloní Montanini Mafei

Orientador: Prof. Dr. Tomás de Aquino Portes

Goiânia – GO
2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
NÍVEL MESTRADO

**EMIÇÃO DE FLUORESCÊNCIA E PRODUÇÃO DE MASSA
SECA EM FEIJÃO E SOJA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE
NITROGÊNIO EM COBERTURA**

Maloní Montanini Mafei
Orientador: Prof. Dr. Tomás de Aquino Portes

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Biologia da
Universidade Federal de Goiás, como
requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Biologia, área de
concentração: Biologia Celular e
Molecular.

Goiânia-GO
2009

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, pelo
incondicional apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Goiás, através do Instituto de Ciências Biológicas, pela oportunidade de realização do Curso.

Ao Prof. Tomás de Aquino Portes, pela oportunidade e orientação na realização desta pesquisa;

À Prof^a. Lee Chen Chen, por disponibilizar equipamentos do laboratório de “Radiobiologia e Mutagênese” para análises do experimento;

Ao técnico do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Paulo Faria, pelo auxílio e motivação;

Aos meus grandes amigos da pós-graduação, Daiana, Joyce, Olívia e Rodrigo, pelo companheirismo;

À estagiária e amiga, Bárbara Regina, pela colaboração durante toda a condução do experimento;

Aos colegas de trabalho da Universidade Estadual de Goiás - UEG, pelo apoio de sempre.

A todos vocês, o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1. Metabolismo e importância do Nitrogênio	12
2.2. Fotoquímica e Fluorescência da clorofila <i>a</i>	14
2.3. Feijão, soja e o nitrogênio na adubação	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Variáveis analisadas	21
3.1.1. Análise de Fluorescência da clorofila <i>a</i>	21
3.1.2. Massa seca das plantas	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Emissão de fluorescência da clorofila <i>a</i>	23
4.2. Massa Seca das plantas e componentes da produção	24
5. CONCLUSÕES	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado da análise química do solo, entre 0-20 cm de profundidade, realizada anteriormente à implantação do experimento.	19
Tabela 2 – Valores de F da análise de variância em experimento fatorial 2 x 2 x 2, para as variáveis de Fluorescência Inicial (F_0), Variável (F_v), Máxima (F_m), Máxima Eficiência Fotoquímica (F_v/F_m) do feijoeiro e soja, sem (N_0) e com (N_1) sulfato de amônio em cobertura e avaliados em duas leituras.	23
Tabela 3 – Valores de F da análise de variância em experimento fatorial 2 x 2, para as variáveis massa seca (g) e número total (nº) de feijoeiro e soja tratados com dois níveis de nitrogênio (N_0 e N_1).	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Plantas de feijão e soja na casa de vegetação, com 35 dias após a emergência (DAE). 20

Figura 2. Plantas de feijão (esquerda) e soja (direita), 35 dias após a emergência (DAE), pinçadas para leitura de fluorescência. 22

EMIÇÃO DE FLUORESCÊNCIA E PRODUÇÃO DE MASSA SECA EM FEIJÃO E SOJA EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO EM COBERTURA.

Autor: Maloní Montanini Mafei

Orientador: Prof. Dr. Tomás de Aquino Portes

RESUMO

O nitrogênio é considerado um elemento essencial para as plantas, visto que ele está envolvido na composição de várias biomoléculas como ATP, NADH, NADPH, proteínas, enzimas e clorofila. A clorofila está diretamente associado com o potencial da atividade fotossintética, assim como, o estado nutricional da planta. O uso de variáveis da fluorescência das clorofilas tem sido difundido, principalmente no estudo da capacidade fotossintética das plantas, por ser um método não-destrutivo que permite a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo aparelho fotossintético. O objetivo desta pesquisa foi quantificar a emissão de fluorescência pela clorofila *a* (Fluorescência Inicial (F_0); Variável (F_v); Máxima (F_m); Terminal (F_t) e Máxima Eficiência Fotoquímica (F_v/F_m) no fotossistema II e a massa seca em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e soja (*Glycine max* (L.) Merr.), submetidos à aplicação de nitrogênio na forma de sulfato de amônio, em cobertura. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em fatorial formado pelas duas leguminosas, duas leituras e dois níveis de nitrogênio $N_0 = 0,000 \text{ g.kg}^{-1}$ (testemunha) e $N_1 = 0,060 \text{ g.kg}^{-1}$. A adubação nitrogenada com sulfato de amônio em cobertura influenciou a fluorescência mínima (F_0) e não influenciou nas demais variáveis da fluorescência em feijoeiro e soja. Proporcionou aumento das massa seca dos ramos para o feijoeiro, já para soja influenciou no aumento das massas secas das cascas das vagens e número de vagens.

Palavras – Chave: *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, Fluorescência da clorofila *a*, massa seca.

EMISSION OF THE FLUORESCENCE AND PRODUCTION DRY MATTER IN BEAN AND SOYBEAN A FUNCTION OF APPLICATION OF NITROGEN IN COVAREAGE

Autor: Maloní Montanini Mafei

Orientador: Prof. Dr. Tomás de Aquino Portes

ABSTRACT

Nitrogen is considered an essential element for plants, since it is involved in the composition of various biomolecules such as ATP, NADH, NADPH, proteins, enzymes and chlorophyll. The chlorophyll is a pigment from the leaves of plants, which is directly associated with the potential of photosynthetic activity, as well as the nutritional status of the plant. The use of the variable fluorescence of chlorophyll has been widespread, especially in the study of photosynthetic capacity of plants, as a non-destructive method that allows qualitative and quantitative analysis of the absorption and utilization of light energy by photosynthetic apparatus. The objective of this research was to quantify the emission of the chlorophyll *a* fluorescence (F_0 , initial fluorescence; Variable- F_v , F_m -Maximum, Terminal- F_t and Efficiency Fotoquímica- F_v/F_m) in photosystem II and the dry matter in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) submitted the application of nitrogen in the form of ammonium sulfate in coverage. The experimental design was completely randomized in factorial formed by two legumes, two readings and two levels of nitrogen $N_0 = 0.000 \text{ g.kg}^{-1}$ (control) and $N_1 = 0,060 \text{ g.kg}^{-1}$. Nitrogen fertilization with ammonium sulfate in coverage influenced the minimum fluorescence (F_0) and not influenced by other variables of fluorescence in bean and soybean. Increased the dry mass of branches for the bean, to have influenced the increase in soybean dry masses of shells of pods and number of pods.

Key - words: *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, fluorescence of chlorophyll *a*, dry matter.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo produtor mundial de feijão do gênero *Phaseolus* e o primeiro da espécie *Phaseolus vulgaris*. A importância dessa produção deve-se a que o feijão, além de se constituir em um dos alimentos básicos da população brasileira é uma das principais fontes de proteína da dieta alimentar dos estratos sociais economicamente menos favorecidos (EMBRAPA, 2009).

A soja é uma planta herbácea, introduzida no Brasil e que tem sido cultivada desde 1960 (Hungria *et al.*, 2001; Gomes, 1986). O expressivo crescimento da produção de soja no Brasil, de quase 30 vezes no decorrer de apenas três décadas, desencadeou mudanças sem precedentes na história do país.

Apenas certos elementos minerais foram considerados essenciais para o crescimento vegetal. Um elemento essencial é definido como aquele cuja ausência impede a planta de completar seu ciclo de vida ou aquele que tem papel fisiológico definido (Arnon & Stout, 1939). O nitrogênio (N) é considerado elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, proteínas e inúmeras enzimas e a clorofila envolvida na fotossíntese (Brendemier & Mundstock, 2000).

A clorofila é um pigmento que está diretamente associada com o potencial da atividade fotossintética, assim como o estado nutricional das plantas, geralmente, está associado com a quantidade e qualidade de clorofila (Zotarelli *et al.*, 2003). Segundo Piekielek *et al.* (1995), o teor de clorofila na folha pode ser utilizado para prever o nível nutricional de nitrogênio nas plantas, pelo fato de a quantidade desse pigmento correlacionar-se positivamente com o teor de nitrogênio na planta.

O uso de variáveis da fluorescência das clorofilas tem sido difundido, principalmente no estudo da capacidade fotossintética das plantas, por ser um método não-destrutivo que permite a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa (máxima eficiência fotoquímica do fotossistema II – Fv/Fm) pelo aparelho fotossintético. Essa técnica tem permitido um aumento no conhecimento dos processos fotoquímicos e não-fotoquímicos que ocorrem na membrana dos tilacóides, além de possibilitar o estudo de características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons (Krause & Weis, 1991).

O presente trabalho tem como objetivo principal avaliar a emissão de fluorescência pela clorofila *a* no fotossistema II e a massa seca em feijão e soja, cultivados em solo natural de Cerrado, submetidos à aplicação em cobertura de nitrogênio, na forma de sulfato de amônio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Metabolismo e importância do Nitrogênio

A assimilação do nitrogênio está diretamente relacionada com o metabolismo do carbono, que fornece energia, redutores e esqueletos carbônicos necessários para converter o nitrogênio inorgânico em compostos orgânicos (Peuke & Jeschke, 1993).

O nitrogênio (N) é considerado elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, NADH, NADPH, clorofila, proteínas e inúmeras enzimas (Brendemier & Mundstock, 2000).

Apesar de abundante na atmosfera (concentração em torno de 78%), as plantas e demais organismos eucariotos não são capazes de utilizar diretamente o gás N_2 na produção de aminoácidos e demais substâncias orgânicas. Para ser assimilado e entrar na composição de aminoácidos, ele deve estar na forma fixada e, sua fixação se dá com a quebra da tripla ligação covalente e de grande estabilidade existente entre os dois átomos de N produzindo amônia (NH_3) ou nitrato (NO_3^-). A sua fixação pode ser artificial, através de processos industriais e, biológica (Taiz & Zeiger, 2004).

A fixação biológica consiste na redução do nitrogênio em amônia pela atividade de alguns microrganismos procariotos. Esta fixação pode ocorrer de forma assimbiótica ou simbiótica. Na forma assimbiótica os organismos vivem livres no solo e não mantêm relação simbiótica com a planta. Na fixação simbiótica o organismo simbiote fornece o N_2 fixado na forma de amônia (NH_3) diretamente à planta e em troca, a planta fornece carboidratos provenientes da fotossíntese (Taiz & Zeiger, 2004).

Posterior à fixação, o nitrogênio passa pelo processo de assimilação que compreende os processos de redução do nitrato a amônio e a incorporação do amônio em aminoácidos, pela via GS/GOGAT. A taxa e a quantidade de nitrogênio assimilado pelas plantas durante o seu ciclo dependem da atividade das enzimas envolvidas no ciclo do nitrogênio e da disponibilidade de energia necessária para os processos de assimilação (Brendemeier & Mundstock, 2000). Após a entrada na célula o nitrato pode ser reduzido a nitrito (NO_2^-), no citosol, através da redutase do nitrato (RN) e, logo a seguir, convertido a amônio (NH_4^+) no plastídio, através da enzima redutase do nitrito (RNi). O amônio é então, incorporado em aminoácidos pelas enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT), formando glutamina (GLN), glutamato (GLU) e outros aminoácidos e seus metabólitos (Crawford, 1995).

O nitrogênio absorvido pode ser assimilado na própria raiz ou ser transportado para as folhas, onde, então, ocorre sua assimilação. Nas folhas a energia para as reações de assimilação do nitrogênio é gerada nos cloroplastos pela fotossíntese, no citosol pela glicólise, e nas mitocôndrias pelo ciclo do ácido tricarboxílico no processo de respiração (Huppe & Turpin, 1994). Quando o nitrogênio é metabolizado nas raízes, a energia é gerada no citosol, através do ciclo das pentoses e da glicólise, e nas mitocôndrias pelo ciclo do ácido tricarboxílico (Oaks & Hirel, 1985).

De acordo com Carelli *et al.* (1996), a capacidade fotossintética das plantas é dependente do suprimento de nitrogênio. Uma considerável fração desse elemento encontra-se nas folhas, alocado nas proteínas envolvidas no processo fotossintético. Em adição, a fotossíntese depende de vários compostos nitrogenados, como enzimas e pigmentos fotossintéticos, para a produção dos compostos de carbono que compõem a planta. Nas raízes, existe necessidade de importação dos carboidratos produzidos nas folhas para, após serem metabolizados, gerar energia e fornecer esqueletos de carbono para o processo de incorporação do nitrogênio em aminoácidos (Oaks & Hirel, 1985). Por essa razão, a capacidade fotossintética das plantas e o metabolismo do nitrogênio estão diretamente interligados

A estrutura das clorofilas *a* e *b* é basicamente, a mesma. Compõe-se da porção porfirina, constituída de quatro anéis de pirrol ligados por pontes de carbono-hidrogênio. O íon metálico Mg está inserido no centro porfirina (Magalhães, 1985). O ácido δ -aminolevulínico, um aminoácido não protéico, cuja via de biossíntese tem como precursor inicial o glutamato, é a molécula precursora da clorofila (Kannangara, 1991). Portanto a disponibilidade de nitrogênio na forma de glutamato pode influenciar fortemente a capacidade fotossintética das plantas. O conteúdo de clorofila das folhas representa um parâmetro apropriado na avaliação da aquisição de nitrogênio pelas plantas, sob diferentes condições ambientais, além disso, pode fornecer um diagnóstico confiável a respeito das condições nutricionais das plantas (Shadchina & Dmitrieva, 1995).

A clorofila é um pigmento que reflete a cor verde nas plantas e está diretamente associada com o potencial da atividade fotossintética, assim como o estado nutricional das plantas, geralmente, está associado com a quantidade e qualidade de clorofila (Zotarelli *et al.*, 2003). Como o N é constituinte da molécula de clorofila, geralmente existe alta correlação entre o seu teor e a clorofila nas folhas. Dessa forma, vários autores têm relatado a viabilidade de se utilizar a avaliação indireta (clorofilômetro

SPAD) de clorofila como indicativo do estado nutricional em relação ao N (Furlani Jr *et al.*, 1996).

2.2. Fotoquímica e Fluorescência da clorofila *a*

Através do processo de fotossíntese a energia da luz é usada para a produção de ATP e NADPH nas reações luminosas (fase fotoquímica) e subsequentemente, na reação independente de luz (fase bioquímica), o carbono é fixado em carboidratos e o oxigênio é produzido (Bertaminia *et al.*, 2006).

A captura e armazenamento da energia da luz visível, em folhas de plantas superiores, são mediados por uma intrínseca associação entre o complexo pigmento-proteína que captura luz e o transporte seqüencial de elétrons do PSII para o PSI. A eficiência da utilização da luz por cada fotossistema varia em coordenação com a capacidade das reações de fixação do CO₂ para consumo de NADPH e ATP gerado por reações luminosas (Foyer *et al.*, 1990).

As moléculas de clorofila absorvem energia luminosa (fótons) e alteram temporariamente as suas configurações eletrônicas. Estes pigmentos passam do estado basal (ou fundamental) para o estado excitado (nível de energia mais alto). Este estado excitado é muito instável e de vida muito curta. Desta maneira, estes pigmentos fotossintéticos, após receberem a energia dos fótons, dissipam esta energia proveniente da luz por meio de três vias de dissipação do estado excitado (estado de elevada energia): 1. Dissipação fotoquímica: é a utilização da energia luminosa para os processos fotoquímicos da fotossíntese. Esta dissipação de energia é representada pelo *quenching* fotoquímico. 2. Fluorescência: emissão da radiação na região visível (vermelho e vermelho distante). 3. Dissipação não-fotoquímica: é a produção de calor na forma de radiação infravermelha. Esta dissipação é representada pelo *quenching* não-fotoquímico (Campostrini, 2001). Estes três processos ocorrem em competição, de modo que qualquer aumento na eficiência de um poderá resultar na diminuição dos outros dois (Degl'Innocenti *et al.*, 2002). Portanto quando a fotossíntese é máxima a emissão de fluorescência e a liberação de calor são mínimos. Ao contrário, se a fluorescência e emissão de calor aumentam, o rendimento quântico fotossintético é reduzido (Buschmann *et al.*, 1994).

A fluorescência da clorofila representa uma pequena porção da energia de excitação absorvida “in vivo” e re-irradiada (cerca de 3 a 5 %) e não utilizada nas reações

fotoquímicas da fotossíntese (Bolhàr-Nordenkamp & Öquist, 1993; Krause & Weis, 1991).

O uso da re-emissão da luz de excitação na forma de fluorescência das clorofilas tem sido difundido, principalmente no estudo da capacidade fotossintética das plantas, por ser um método não-destrutivo que permite a análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa (eficiência fotoquímica do fotossistema II – Fv/Fm) pelo aparelho fotossintético. Essa técnica tem permitido um aumento no conhecimento dos processos fotoquímicos e não-fotoquímicos que ocorrem na membrana dos tilacóides, além de possibilitar o estudo de características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons (Krause & Weis, 1991). Sobre condições fisiológicas favoráveis a maior parte da luz (> 80%) absorvida por folhas verdes é usada nas reações fotoquímicas da fotossíntese (Benson, 2002), a fase fotoquímica da fotossíntese acontece nos tilacóides, organelas dos cloroplastos. Os produtos finais das reações nos tilacóides são o ATP e NADPH, compostos ricos em energia que são usados para a síntese de açúcares nas reações de fixação do carbono. Esta fase bioquímica de síntese acontece no estroma dos cloroplastos, uma região aquosa que circunda os tilacóides (Romano, 2001).

A relação inversa entre fluorescência e atividade fotossintética foi primeiramente descrita por Kautsky e pode ser usada para estudar atividade fotossintética potencial das folhas e para detectar os efeitos de estresses em plantas. Um sinal típico de indução da fluorescência em luz contínua é conhecido como “Efeito Kaustky”, onde após um pico ou um máximo de fluorescência, acontece a atenuação (o denominado “*quenching*”). Normalmente a extensão do “*quenching*” é expressa por coeficiente que varia de 0 a 1, indicando a proporção atenuada da fluorescência máxima (Krause & Weis, 1991).

Cerca de 90% da fluorescência origina-se da clorofila *a* do fotossistema II (PSII), refletindo os processos primários da fotossíntese, como a captação de luz, distribuição e transferência da energia de excitação (Krause & Weis, 1991). Parte dessa fluorescência emitida seria uma resposta às mudanças na atividade do PSII. Tendo em vista a relação funcional do PSII para com outros componentes do aparelho fotossintético, a emissão da fluorescência é usada como indicador indireto do processo fotossintético como um todo. Essas reações dependem do estado de oxidação da quinona *a* (Qa), o receptor primário do PSII, e o gradiente de prótons (H⁺) intermembrana. Portanto, não só os fatores relacionados com a etapa fotoquímica, mas também aqueles envolvidos com as reações de fixação de carbono, todos direta ou indiretamente refletem na fluorescência

emitida pela clorofila *a* sendo um bom instrumento para se avaliar a atividade fotossintética, com a grande vantagem de ser um procedimento não invasivo (Krause & Weis, 1991).

Segundo Krause & Weis (1991) a análise da cinética de emissão da fluorescência das clorofilas permite o estudo das características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons.

Para a interpretação das variáveis do processo fotossintético existe uma extensa opção de sinais de fluorescência utilizados (Maxwell & Johnson, 2000). Alguns sinais são gerados diretamente enquanto outros são decorrentes das relações entre estes. Os sinais básicos da fluorescência da clorofila *a* são: F_0 , F_v , F_m , F_t e F_v/F_m .

A fluorescência mínima ou inicial F_0 , reflete o estado da clorofila *a* do complexo-antena. O complexo coletor de luz – antena é formado por proteínas integrais associadas às clorofilas (*a* e *b*) e aos carotenóides; esse complexo é responsável pela captura de fótons e transferência da excitação, na forma de fluxo de elétrons, denominados de excitons, até os pigmentos clorofila *a* associados ao centro de reação do PSII. De acordo com Bolhàr-Nordenkamp & Öquist (1993) F_0 é uma medida da distribuição inicial da energia, antes do éxciton (elétron a caminho entre a molécula de onde foi ejetado e o centro de reação, P680) migrar para o centro de reação (P680) do PSII.

A fluorescência máxima F_m , é definida como a intensidade de fluorescência em que todos os centros de reação do PSII estão abertos, isso é, a extinção fotoquímica é igual a zero e todos os processos de extinção fotoquímica estão no mínimo (coeficiência de extinção fotoquímico igual à zero) (Van Kooten & Snel, 1990). Este estado, de fluorescência máxima, se consegue aplicando um bloqueador do fluxo de elétrons do PSII, como o herbicida DCMU (Diuron), ou permitindo à planta se adaptar ao escuro por um período de aproximadamente 30 minutos (Portes, 1990).

A diferença entre F_m e F_0 é chamada de fluorescência variável F_v , esta fluorescência (F_v) se origina da população de pigmentos do PSII e se mostra sensível à taxa de transporte de elétrons através dos centros de reação e às mudanças na estrutura da membrana do tilacóide (Georgieva & Yordanov, 1993).

A razão entre as fluorescências variável e a máxima (F_v/F_m) expressa a eficiência de captura da energia de excitação pelos centros de reação abertos do PSII (Krause e Weis, 1991), o que pode representar a eficiência quântica do transporte de elétrons através do PSII (Haehnel *et. al.*, 1982 *apud* Bacarin & Mosquim, 2002).

A fluorescência terminal, Ft, é definida como o nível de fluorescência correspondente ao estado estacionário das reações fotossintéticas (Siffel et al, 1988 *apud* Bacarin & Mosquim, 2002).

2.3. Feijão, soja e o nitrogênio na adubação

O Brasil é o segundo produtor mundial de feijão do gênero *Phaseolus* e o primeiro na espécie *Phaseolus vulgaris*. A importância dessa produção deve-se a que o feijão, além de se constituir um dos alimentos básicos da população brasileira é um dos principais produtos fornecedores de proteína na dieta alimentar dos estratos sociais, economicamente menos favorecidos (EMBRAPA, 2009).

O feijoeiro é uma planta C₃, portanto, o seu mecanismo de carboxilação é chamado de processo redutivo da pentose fosfato. É através deste mecanismo que os feijoeiros fixam o CO₂ atmosférico, metabolizando-o em compostos orgânicos que, em última instância, vão formar a estrutura das plantas. O feijoeiro comum é uma planta exigente em nutrientes, muito sensível a fatores climáticos extremos como alta ou baixa umidade do solo, alta ou baixa temperatura do ar, ventos fortes, além de ser conhecido como planta muito suscetível a doenças e pragas. A própria arquitetura da planta é deficiente e tem, por exemplo, um sistema radicular limitado (Portes, 1996).

A fixação de nitrogênio (N) por microorganismos do gênero *Rhizobium* (FBN) na cultura do feijoeiro vem recebendo atenção da pesquisa ao longo do tempo (Ferreira *et al.*, 2004), porém há inúmeros trabalhos que mostram que a inoculação com *Rhizobium* não fornece o nitrogênio que a cultura necessita para atingir níveis econômicos de produtividade de grãos (Alves, 2002; Ferreira *et al.*, 2004). Por essa razão, entre os insumos que mais contribuem para a produtividade de grãos, está o emprego de fertilizantes nitrogenados. Há disparidade muito grande entre os agricultores na utilização de N (Ferreira *et al.*, 2004). Diferentemente do feijão, a soja responde bem à fixação biológica do nitrogênio (Ferreira *et al.*, 2004), porém, mesmo respondendo bem à fixação biológica, tanto a soja e, em especial o feijão necessitam de nitrogênio via adubação mineral, em especial de cobertura.

A soja é uma planta herbácea (Gomes, 1986) introduzida no Brasil e que tem sido cultivada desde 1960 (Hungria *et al.*, 2001). O expressivo crescimento da produção de soja no Brasil, de quase 30 vezes no decorrer de apenas três décadas, desencadeou mudanças sem precedentes na história do país. Em 2003, foi o segundo maior produtor

mundial, responsável por 52 das 194 milhões de toneladas produzidas em nível global, ou seja, 26,8% da safra mundial. A soja impulsionou ou foi a grande responsável pela aceleração da mecanização das lavouras brasileiras, modernização do sistema de transportes, expansão da fronteira agrícola, profissionalização e incremento do comércio internacional e, modificação e enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros. O Brasil se destaca como o país que apresenta as melhores condições para expandir a produção e prover o esperado aumento da demanda mundial (Embrapa, 2007).

A adubação nitrogenada é uma prática cultural normalmente utilizada pelos produtores de feijão. Na cultura da soja, como na maioria das espécies cultivadas, o fornecimento de fertilizantes nitrogenados apresenta baixa eficiência de utilização por parte da planta devido às perdas elevadas que ocorrem (Silveira *et al.*, 2003). O nitrogênio é perdido principalmente pela lixiviação de nitrato, volatilização de amônia e emissão de N_2 , N_2O e outros óxidos de nitrogênio (Anghinoni, 1986).

A adoção de manejo cultural adequado, como o emprego da adubação nitrogenada, é de grande importância para aumentar a produtividade do feijoeiro (Furlani Jr *et al.*, 1996). Segundo Freitas *et al.* (1994) consideram como objetivo principal da fertilização nitrogenada a complementação das exigências adequadas de N pelas plantas que não foram supridas pelo N-inorgânico do solo ou pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico.

Plantas com deficiência de N apresentam-se atrofiadas e as folhas revelam coloração 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 (Oliveira *et al.*, 1996). Além disso a deficiência de N provoca mudanças na resistência difusiva ao CO_2 , em virtude do aumento da resistência do mesófilo e em menor proporção na resistência estomática (Ryle & Hesketh, 1969), alterando a síntese e atividade da ribulose 1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), o que provoca redução nas taxas fotossintéticas (Costa *et al.*, 1988), com conseqüências no desenvolvimento e produtividade das culturas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento, iniciado em julho/2008, foi conduzido na casa de vegetação e no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas (ICB I) da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia.

Antes da instalação do experimento na casa de vegetação foi realizada a análise química do solo utilizado. As amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0-20 cm na área do Campus e encaminhadas ao Laboratório de Análise de Solo e Foliar da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. O resultado da análise (Tabela 1) revelou que o solo apresenta-se com teores altos de Ca e médios de Mg e matéria orgânica e teores baixos de P e K.

A adubação de correção foi feita tomando por base a análise química do solo resultando em 350 kg/ha da fórmula 4-30-10. Ao final, cada vaso com capacidade de 9 kg de solo recebeu 0,526 g do fertilizante.

Tabela 1 - Resultado da análise química do solo, entre 0-20 cm de profundidade, realizada anteriormente à implantação do experimento.

M.O. %	pH (CaCl ₂)	P(Mehl) mg/dm ³	K mg/dm ³	Ca mg/dm ³	Mg mg/dm ³	H+Al molc/ dm ³	Al molc/ dm ³	CTC	M	V	Ca/CTC	Mg/CTC	K/CTC	Ca/Mg	Mg/K	Ca/K
2,8	5,2	2,3	44,0	5,7	0,5	3,1	0,0	9,4	0,0	67,1	60,6	5,3	1,2	11,4	4,4	50,7

Análise realizada pelo Laboratório de Solos e Análise Foliar da Escola de Agronomia/UFG.

As sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. c.v. Rudá) utilizadas neste experimento, foram fornecidas pela Embrapa Arroz e Feijão e as de soja (*Glycine max* (L.) Merr. c.v. CD 219) fornecidas pelo Setor de Agricultura da Faculdade de Agronomia/UFG.

As sementes foram semeadas resultando em duas plantas por vaso após o desbaste, realizado 12 dias após a emergência, para as duas espécies, feijoeiro e soja. Durante todo o período do experimento as plantas receberam volume de água igual e diário, suficiente para manter o solo adequadamente úmido.



Figura 1. Plantas de feijão e soja na casa de vegetação, com 35 dias após a emergência (DAE).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, formado pelas duas leguminosas, duas leituras e dois níveis de nitrogênio totalizando oito tratamentos em quatro repetições. As duas espécies de leguminosas foram feijão (*Phaseolus vulgaris* L. c.v. Rudá) e soja (*Glycine max* (L.) Merr. c.v. CD 219). As duas leituras foram antes e depois da aplicação do nitrogênio e os níveis de nitrogênio foram $N_0 = 0,000 \text{ g.kg}^{-1}$ e $N_1 = 0,060 \text{ g.kg}^{-1}$, que corresponde a 0,3 g de sulfato de amônio (SA)/kg de solo ou 4,7g de SA por vaso de 9kg.

Os dados de fluorescência da clorofila *a* foi submetido à análise de variância (ANOVA) em experimento fatorial $2 \times 2 \times 2$. Já os dados de massa seca foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em experimento fatorial 2×2 , por não

haver o fator época. Todos estes dados foram submetidos também a comparação de médias feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As análises foram feitas com o auxílio do programa computacional SISVAR.

O nitrogênio foi aplicado via água de irrigação em cobertura, aos 30 dias após a emergência na forma de sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

3.1. Variáveis Analisadas

3.1.1. Análise de Fluorescência da clorofila *a*

Com o auxílio de um fluorômetro portátil (Plant Efficiency Analyser-Hansatech, Inglaterra), foram tomados os dados de F_0 , F_m , F_v , F_t e F_v/F_m , sendo: F_0 = Fluorescência inicial; F_m = Fluorescência máxima; F_v = Fluorescência variável; F_t = Fluorescência terminal e F_v/F_m = Máxima eficiência fotoquímica.

As leituras foram feitas após a adaptação das folhas ao escuro por 30 minutos, tempo suficiente para que todos os centros de reação do PSII se tornassem abertos. Para adaptação das folhas ao escuro foram utilizadas pinças especiais que acompanham o equipamento. As pinças foram colocadas na região mediana da folha escolhida. Após 30 minutos de adaptação da folha no escuro, a leitura foi realizada com emissão de um pulso de luz, na região mediana da face adaxial da folha, sendo registrados os valores das fluorescências: F_0 , F_m , F_v , F_t e F_v/F_m . As leituras foram realizadas às 9h da manhã, horário em que a temperatura da estufa encontrava-se na faixa de 20° e 25° C, os estômatos presumivelmente abertos e as plantas sem estresse. Estas medições foram realizadas nas plantas no feijoeiro e soja, um dia antes da adição do nitrogênio e dez dias após a adição do mesmo.



Figura 2. Plantas de feijão (esquerda) e soja (direita), 35 dias após a emergência (DAE), pinçadas para leitura de fluorescência.

3.1.2. Massa seca das plantas

Ao longo da realização do experimento as folhas em processo de senescência foram coletadas, submetidas ao processo de secagem na estufa (65° a 70°C) e armazenadas em sacos de papel para posterior verificação de sua massa seca. Das plantas maduras, foram retirados todos os órgãos (raiz, caule, ramos, folhas, cascas das vagens e sementes) e colocados em sacos de papel e levados para secar na estufa. Somente as sementes foram secas ao ar livre. Após a secagem os materiais foram pesados e registrados os pesos.

Das plantas maduras colhidas foi feita a contagem do número de vagens e de sementes produzidas por planta.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Emissão de fluorescência da clorofila *a*

Os três fatores espécies (E), níveis de nitrogênio (N) e datas de leitura da fluorescência (L) avaliados no experimento e suas várias interações se encontram na tabela 2.

Tabela 2 – Valores de F da análise de variância em experimento fatorial 2 x 2 x 2, para as variáveis de Fluorescência Inicial (F₀), Variável (Fv), Máxima (Fm), Máxima Eficiência Fotoquímica (Fv/Fm) do feijoeiro e soja, sem (N₀) e com (N₁) sulfato de amônio em cobertura e avaliados em duas leituras.

Tratamentos	F ₀	Fv	Fm	Fv/Fm	Ft
Culturas (E)					
Feijoeiro (E₁)	314,500a	1259,063a	1573,938a	0,798b	361,687a
Soja (E₂)	281,312b	1285,625a	1566,500a	0,820a	445,750a
Datas das leituras (L)					
1ª leitura (L₁)	306,625a	1342,000a	1648,188a	0,813a	390,937a
2ª leitura (L₂)	289,187b	1202,688b	1492,250b	0,804b	416,500a
Doses de Nitrogênio (N)					
0,000 g.vaso⁻¹ (N₀)	299,625a	1253,063a	1552,250a	0,806a	380,437a
0,060 g.vaso⁻¹ (N₁)	296,187a	1291,625a	1588,188a	0,812a	427,000a
E₁ x L₁	332,750a	1343,750	1676,500	0,801	333,000
E₁ x L₂	280,500b	1340,250	1619,875	0,826	448,875
E₂ x L₁	296,250a	1174,735	1471,375	0,796	390,375
E₂ x L₂	282,125a	1231,000	1513,125	0,813	442,625
E₁ x N₀	314,750	1249,250	1564,000	0,798	344,500
E₁ x N₁	284,500	1256,875	1540,500	0,815	416,375
E₂ x N₀	314,250	1268,875	1583,875	0,799	378,875
E₂ x N₁	278,125	1314,375	1592,500	0,825	475,125
L₁ x N₀	308,875	1345,625	1653,625	0,813	396,750
L₁ x N₁	290,375	1160,500	1450,875	0,800	364,125
L₂ x N₀	304,375	1338,375	1642,750	0,814	385,125
L₂ x N₁	288,000	1244,875	1533,625	0,810	468,875

L₁ - 1ª leitura – um dia antes da aplicação do N

L₂ - 2ª leitura – dez dias após a aplicação de N

O teste de comparação de médias (teste de Tukey) não foi realizado onde o F não foi significativo.

A fluorescência inicial (F₀) apresentou diferença significativa ao se comparar as espécies feijão (E₁) e soja (E₂) e as datas de leituras (L₁ e L₂). Observa-se que em feijão a F₀ sofreu redução significativa de 332,75 (E₁ x L₁) para 280,5 (E₁ x L₂), tendo variado em razão da data de leitura da fluorescência, enquanto que para soja isso não ocorreu. Ao aplicar N (sulfato de amônio), o valor de F não foi significativo não realizando assim o teste de Tukey. É provável que a redução na F₀, entre as datas em que as leituras foram feitas, nas plantas que não receberam N, tenha sido devido a degradação natural

de clorofila, com o envelhecimento das folhas (Zhang *et al.*, 2006), por outro lado, nas folhas das plantas que receberam N, a não redução tenha sido devido ao efeito do N, prolongando a duração dos pigmentos da antena e ativamente por mais tempo, em relação aos das plantas que não receberam N.

Em se tratando da fluorescência inicial (F_0) presume-se que a sua emissão, a qual ocorre dentro do estágio rápido da fluorescência, representa a energia liberada pelas moléculas de clorofila *a* da antena do fotossistema II, antes dos elétrons migrarem para o centro de reação P 680 (PSII), sendo o componente mínimo do sinal da fluorescência (Mathis & Paillotin, 1981). Portanto, é uma perda fotoquímica, que se espera, não influenciável ou pouco influenciável pela presença ou não do N. Porém, na literatura muitos resultados, controversos, têm sido apresentados. Aumento significativo nos valores de F_0 foi observado em plantas de feijão submetidas a alto nível de nitrogênio (Lima *et al.*, 1999).

Resultados similares também foram encontrados por Bacarin & Mosquin (2002), trabalhando com dois genótipos diferentes de feijoeiro observaram aumento de F_0 em um dos genótipos em estudo, sugerindo assim que, durante a formação dos drenos metabólicos (vagens ou nódulos) o sistema de absorção de luz do PSII esteja atuando de forma mais eficiente em um dos genótipos.

Em milho (planta C4) Lu & Zhang (2000) verificaram que o N não exerce efeito em F_0 . Em relação ao fluxo luminoso (densidade de fluxo de fótons), trabalhando com espécies arbóreas, Dias & Marengo (2007) encontraram decrescimos na F_0 ao transferir plantas de menor para maior fluxo luminoso e, em temperaturas diferentes.

O valor de F_0 é alterado por estresses do ambiente que causam alterações estruturais nos pigmentos fotossintéticos do PSII (Bolhár-Nordenkamp *et al.*, 1989). A temperatura, por exemplo, é um fator que altera os valores de F_0 (Portes, 1990).

Não houve variação de fluorescência variável (F_v) entre as espécies de feijão e soja, havendo variação somente entre as diferentes datas de leituras (L_1 e L_2). A aplicação do sulfato de amônio também não influenciou nos valores de F_v (Tabela 2).

Estas variações ocorridas apenas em relação as datas em que as leituras foram feitas (L), semelhantemente ao que ocorreu para F_0 , presume-se que seja apenas devido a senescência de pigmentos (Zhang *et al.* 2006).

A fluorescência máxima (F_m) se encontra situada dentro do estágio rápido da fluorescência. Ocorre mais lentamente que F_0 , e representa a energia liberada ou perdida pelos elétrons que, ejetados dos seus átomos, podem alcançar o extintor Q_A (Quinona

receptora primária estável de elétrons do PSII), da cadeia transportadora de elétrons na membrana dos tilacóides. Tais elétrons, pela presença de algum bloqueador do fluxo eletrônico, ou falta de demanda na produção de NADPH ou ATP ou Frd, retornam às suas moléculas de origem (Baker, 2008; Mathis & Pallotin, 1981).

Valores de fluorescência máxima (Fm) podem ser obtidos de discos foliares embebidos com DCMU (Herbicida Diuron). Este herbicida, do grupo das uréias substituídas, funciona bloqueando o fluxo eletrônico logo após o extintor Quinona (Q_A).

Mais adequadamente, sem agente estressor, a Fm é obtida permitindo à planta adaptar-se ao escuro por 30 minutos ou mais, condição em que os seus centros de reação do PSII, tornam-se “abertos” e a Quinona (Q_A), se encontra oxidada (Baker, 2008). Aplicando um flash de luz logo após a adaptação ao escuro, obtém-se a Fm (Portes, 1990).

Em relação a Fm não houve diferença significativa entre as espécies em estudo. Mais uma vez a variação deveu-se apenas às datas das leituras (L), uma vez que as plantas não receberam SA em cobertura. A adubação de cobertura com SA não influenciou a Fm na soja, tampouco apresentou diferença ao compará-la ao feijão.

Fm também é proporcional à quantidade de clorofila *a*, contida nos tecidos (Miranda, *et al.*, 1981). A detecção da fluorescência da clorofila tem grande vantagem, pois permite a caracterização do estado fisiológico da planta, já que a Fm é a intensidade de fluorescência em que todos os centros de reação do PSII estão abertos, isso é, a extinção fotoquímica é igual a zero e todos os processos de extinção não-fotoquímica estão no mínimo (van Kooten & Snel, 1990), quanto maior a quantidade de clorofila *a*, os processos fotoquímicos da fotossíntese das plantas também estarão elevados, elevando também os valores de Fm.

A razão entre Fluorescência Variável (Fv) e Fluorescência Máxima (Fm) é a Máxima Eficiência Fotoquímica (Fv/Fm), e expressa a eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do PSII (Krause & Weiss, 1991), que pode representar a eficiência quântica do transporte de elétrons.

A Máxima Eficiência Fotoquímica (Fv/Fm) em feijão e soja diferiu, sendo a Fv/Fm maior em soja (0,820) com relação ao feijoeiro (0,798) (Tabela 2). Com a aplicação de SA as médias não diferiram de Fv/Fm, isto é o SA não alterou significativamente a Fv/Fm.

Quando ocorre a diminuição das taxas de Fv/Fm é resultado da redução da fração dos centros de reação do PSII, causando baixa nas reações fotoquímicas

(aumento do *quenching* não-fotoquímico) (Baker & Oxborough, 2004). Em muitos estudos ecofisiológicos é sugerido que o estresse-induzido diminui Fv/Fm, quando as plantas são expostas a estresse abióticos ou bióticos (Baker, 2008).

Martínez-Carrasco *et al.* (2005), em seu experimento, observaram que Fv/Fm aumentou com o aumento do suprimento de nitrogênio, que é revertido em componentes do aparato fotossintético, que ocasiona atividade aumentada da Rubisco (Pérez *et al.*, 2005), em nosso experimento a aplicação de nitrogênio na forma de SA não refletiu no aumento nos valores de Fv/Fm.

Os valores de Fluorescência Terminal (Ft) das plantas submetidas à adubação com sulfato de amônio não diferiram entre si ($p \geq 0,05$) (Tabela 2).

A baixa influência de nitrogênio na forma de sulfato de amônio, sobre a emissão de fluorescência pelas folhas, deve ser devido ao modo de aplicação do mesmo, considerando as perdas que geralmente ocorrem por lixiviação do nitrato, volatilização da amônia entre outras (Taiz & Zeiger, 2004).

Outro fator a ser considerado, como a totalidade do NH_4^+ absorvido pelas raízes deve ser assimilado nas próprias raízes, o impacto deste íon na fluorescência não deve ser tão pronunciado, como encontrado neste trabalho, como deve ser o do íon NO_3^- , este é translocado até os cloroplastos onde ocorre sua redução e assimilação, com gasto direto de energia e redutor da fase fotoquímica da fotossíntese e, por essa razão, a sua presença provocaria um efeito maior no processo fotoquímico do que o íon NH_4^+ (Oaks & Hirel, 1985).

4.2. Massa Seca das plantas e componentes da produção.

As massas secas (g) avaliadas dos ramos, cascas das vagens e nº de vagens das espécies analisadas apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) em função da aplicação do sulfato de amônio, não havendo diferença para as demais ($p \geq 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de F da análise de variância em experimento fatorial 2 x 2, para as variáveis massa seca (g) e número total (nº) de feijoeiro e soja tratados com dois níveis de nitrogênio (N_0 e N_1).

Tratamentos	Massa seca (g)				Número total		
	Folhas	Ramos	Raízes	Cascas das vagens	Sementes	Nº de vagens	Nº de sementes
Culturas (E)							
Feijoeiro (E_1)	5,871a	5,711a	5,231a	2,638b	9,758a	9,875b	46,750a
Soja (E_2)	1,947b	2,417b	3,958a	4,096a	4,267b	28,375a	39,000a
Doses de Nitrogênio (N)							
0,000 g.vaso⁻¹ (N_0)	3,198b	3,368b	3,749b	2,960b	7,026a	17,000b	46,125a
0,060 g.vaso⁻¹ (N_1)	4,620a	4,759a	5,440a	3,775a	7,000a	21,250a	39,625a
$E_1 \times N_0$	4,720	4,540a	3,739	2,528a	10,521	10,250a	47,250
$E_1 \times N_1$	7,022	6,880b	6,723	2,749a	8,996	9,500a	46,250
$E_2 \times N_0$	1,676	2,195a	3,758	3,392a	3,530	23,750a	33,000
$E_2 \times N_1$	2,218	2,638a	4,157	4,800b	5,004	33,000b	45,000

O teste de comparação de médias (teste de Tukey) não foi realizado onde o F não foi significativo.

A massa seca das folhas do feijoeiro aumentou com a aplicação do SA em cobertura, de 4,720 ($E_1 \times N_0$) para 7,022 ($E_1 \times N_1$), o mesmo aconteceu para soja que teve aumento de 1,676 ($E_2 \times N_0$) para 2,218 ($E_2 \times N_1$) (Tabela 3). Portanto, o feijoeiro e a soja responderam a adubação de cobertura com SA, em termos de massa seca das folhas, sendo este aumento de forma não significativa.

No feijoeiro a massa seca dos ramos aumentou de forma significativa em razão da aplicação do SA em cobertura, de 4,540 ($E_1 \times N_0$) para 6,880 ($E_1 \times N_1$). Na soja, a massa seca dos ramos aumentou, mas de forma não significativa, de 2,195 ($E_2 \times N_0$) para 2,638 ($E_2 \times N_1$).

Para as raízes a massa seca do feijoeiro aumentou de forma não significativa, de 3,739 ($E_1 \times N_0$) para 6,723 ($E_1 \times N_1$), com a aplicação do SA. Para a soja ocorreu o mesmo, aumentando de 3,758 ($E_2 \times N_0$) para 4,157 ($E_2 \times N_1$).

A massa seca das cascas das vagens do feijoeiro aumentou não significativamente com a aplicação do SA, de 2,528 ($E_1 \times N_0$) para 2,749 ($E_1 \times N_1$). Enquanto que para a soja houve um aumento de massa significativa em função do SA, de 3,392 ($E_2 \times N_0$) para 4,800 ($E_2 \times N_1$).

As massas secas das sementes em feijão não diferiram quando submetidas à aplicação do SA em cobertura, o mesmo ocorrendo para a soja (Tabela 3).

O número de vagens do feijoeiro não diferiu ao aplicar às plantas o SA. Enquanto que a soja teve aumento significativo no seu número de vagens, de 23,750 ($E_2 \times N_0$) para 33,000 ($E_2 \times N_1$), com adubação em cobertura. A soja produziu mais vagens do que o feijão (Tabela 3).

Com relação ao número total de sementes, não houve diferença significativa para feijão e soja ($p \geq 0,05$). Em seus estudos, Meira *et al.*, (2005) observaram que o número de sementes por vagem não foi afetado significativamente pela aplicação de nitrogênio. O número de sementes (grãos) por vagem é uma característica de alta herdabilidade genética, que sofre pouca influência do ambiente (Andrade *et al.*, 1998).

Estes nossos resultados obtidos pelo feijoeiro discordam dos obtidos por Arf *et al.* (2004), pois o número de grãos por vagem mesmo sendo uma característica mais relacionada com o cultivar, foi influenciado pelo aumento nas doses de nitrogênio. Indicando assim, que uma melhor nutrição em N, por exemplo, pode aumentar o número de óvulos fertilizados por vagem.

As doses de nitrogênio não causam grande variação na massa de cem grãos (sementes), segundo Silva e Silveira (2000) e Soratto *et al.*, (2004) em feijão. Esses resultados confirmam o princípio de 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 nitrogênio, a planta de feijão preferencialmente formará poucos grãos nas vagens fixadas ao invés de vários e mal formados (Soratto *et al.*, 2005).

Através das análises realizadas a soja foi mais eficiente em termos de produção de vagens (cascas das vagens e nº de vagens) em relação ao feijão. Já o feijoeiro respondeu ao acréscimo de massa seca em outras partes das plantas (folhas, ramos e raízes) (Tabela 3). Os cultivares e variações de clima podem influenciar a resposta da cultura à aplicação do nitrogênio (Chidi *et al.*, 2002).

Foi observado aumento significativo para as massas secas das cascas das vagens e no número de produção de vagens para a soja. As outras massas secas em estudo não

apresentaram aumentos significativos. Podendo assim, inferir que seja devido às várias fontes de nitrogênio necessárias a esta cultura: o solo, a fixação não-biológica, os fertilizantes nitrogenados e a fixação biológica do nitrogênio atmosférico (Crispino *et al.*, 2001).

A obtenção ou não do efeito positivo da adubação nitrogenada em soja, pode estar na dependência de outros fatores, tais como, variedades, épocas de semeadura, fonte de nitrogênio, etc (Aratani *et al.*, 2008).

A maior demanda do feijoeiro por nitrogênio ocorre entre os estádios de florescimento e meados do enchimento dos grãos (Hungria *et al.*, 1985). Pelos resultados de Soratto *et al.* (2005), notaram-se a importância da aplicação de N na fase vegetativa, ou seja, em época que promova crescimento da planta, pois, plantas mais robustas, com mais ramificações e que produzam maior número de estruturas reprodutivas acarretam maior produtividade de grãos, como também verificado por Soratto *et al.*, (2004) e Soratto *et al.* (2005), demonstraram que o atraso no fornecimento de N à planta, refletiu em baixa produtividade do feijoeiro.

O aproveitamento do nitrogênio é maior quando aplicado em cobertura no máximo 36 dias após a emergência (DAE) (Rosolem, 1987). Já Araújo *et al.* (1994) verificaram que a adubação nitrogenada parcelada, em cobertura, até os 30 dias após a emergência das plantas (DAE) é vantajosa para a cultura de feijão. Sendo assim, estas recomendações foram seguidas neste presente estudo, já que a aplicação do sulfato de amônio ocorreu aos 30 dias após a emergência (DAE) nas plantas de feijão e soja.

Apesar do aumento das massas secas do feijão no que se refere a crescimento vegetativo (ramos), esta cultura não apresentou maior produção de cascas das vagens, nº de vagens e sementes. Isso pode ser explicado, pois, na maioria das espécies cultivadas, o fornecimento de fertilizantes nitrogenados apresenta baixa eficiência de utilização por parte da planta devido às perdas elevadas que ocorrem (Silveira *et al.*, 2003).

5. CONCLUSÕES

1. A adubação nitrogenada com sulfato de amônio em cobertura influencia a fluorescência mínima (F_0), mas não influencia variável (F_v), máxima (F_m), terminal (F_t) e a relação F_v/F_m , em feijoeiro e soja.
2. A F_0 é menor em soja comparada ao feijoeiro.
3. A máxima eficiência fotoquímica (F_v/F_m) é maior para soja do que para feijão.
4. A adubação nitrogenada com sulfato de amônio em cobertura proporciona aumentos das massas secas dos ramos para o feijoeiro, enquanto em soja influencia aumentando as massas secas das cascas das vagens e número de vagens.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V. G. Resposta do feijoeiro a doses de nitrogênio no plantio e cobertura e à inoculação de sementes com rizóbio. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, 2002.

ANDRADE, M.J.B.; DINIZ, A.R.; CARVALHO, J.G. de; LIMA, S.F. Resposta da cultura do feijoeiro à aplicação foliar de molibdênio e às adubações nitrogenadas de plantio e cobertura. *Ciência e Agrotecnologia*, v.22, p.499-508, 1998.

ANGHINONI, I. Adubação nitrogenada nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. In: Santana, M.B.M. Adubação nitrogenada no Brasil. Ilhéus: CEPLAC/SBCS, Cap. 1, p. 1-18, 1986.

ARAÚJO, G. A. A.; VIEIRA, C.; MIRANDA, G. V. Efeito de época de aplicação do adubo nitrogenado em cobertura sobre o rendimento do feijão, no período de outono-inverno. *Revista Ceres*, v.41, p. 442-450, 1994.

ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F.; SÁ, M. E. DE; BUZETTI, S.; NASCIMENTO, V. DO. Manejo do solo, água e nitrogênio no cultivo de feijão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v.39, p. 131-138, 2004.

ARNON, D.I.; STOUT, P.R. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology*. v.14, p. 371- 375. 1939.

ARATANI, R. G.; LAZARINI, E.; MARQUES, R. R.; BACKES, C. Adubação nitrogenada em soja na implantação do sistema de plantio direto. *Biosci. J. Uberlândia*, v. 24, n. 3, p. 31-38, 2008.

BACARIN, M. A.; MOSQUIM, P. R. Cinética de emissão da fluorescência das clorofilas de dois genótipos de feijoeiro. *Ciência Agrotécnica*. Lavras, v. 26, n. 4, p. 705-710, 2002.

BAKER, N. R.; OXBOROUGH, K. Chlorophyll fluorescence as a probe of photosynthetic productivity. *Advances in Photosynthesis and Respiration. Chlorophyll a Fluorescence Signature of Photosynthesis*, 19. Springer, Netherlands, p. 65-82, 2004.

BAKER, N. R. Chlorophyll Fluorescence a Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review Plant Biology*. v. 59, p. 89-113, 2008.

BENSON, A. A. Following the path of carbon in photosynthesis: a personal story. *Photosynthetica Res.*, v.73, p. 29-49, 2002.

BERTAMINIA, M. MUTHUCHELIANB, K.; RUBINIGGA, M.; ZORERA, R.; VELASCOA, R.; NEDUNCHEZHIANA, N. Low-right temperature increased the photoinhibition of photosynthesis in grapevine leaves. *Environ. Exp. Botany*, v.57, p. 25-31, 2006.

BOLHÁR-NORDENKAMPF, H. R. et al. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology*, v. 3, p. 497-514. 1989.

BOLHÁR-NORDENKAMPF, H. R.; ÖQUIST, G. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D. O., SCURLOCK, J. M. O.; BOLHÁR-NORDENKAMPF, H. R.; LEEGOND, R. C. and LONG, S. P. *Photosynthesis and Production in a Changing Environment: a field and laboratory manual*. Chapman & Hall, London, 1993.

BRENDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 30, p. 365-372, 2000.

BUSCHMANN, C.; PREHN, H.; LICHTENTHALER, H. Photoacoustic spectroscopy (PAS) and its application in photosynthesis research. *Photosynthesis Res.*, 5:29-46, 1994.

CAMPOSTRINI, E. Fluorescência da clorofila a: Considerações teóricas e aplicações práticas. Univ. Estadual do Norte Fluminense. Apostila, 2001.

CARELLI, M. L. C.; UNGARO, M. R.G.; FAHL, J. I. E NOVO, M. do C. S. S. Níveis de nitrogênio, metabolismo, crescimento e produção de girassol. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Brasília, v.8, n 2, p. 123-130, 1996.

CHIDI, S. N.; SORATTO, R. P.; SILVA, T. R. B. ARF, O.; SÁ, M. E.; BUZETTI, S. Nitrogênio via foliar em cobertura de feijão irrigado. *Acta Scientiarum*, v.24, p. 1391-1395, 2002.

COSTA, R. C. L. da; LOPES, N. F.; OLIVA, M. A. BARROS, N. F. de. Efeito da água e do nitrogênio sobre a fotossíntese, respiração e resistência estomática em *Phaseolus vulgaris*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.23, p. 1371-1379, 1988.

CRAWFORD, N. M. Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *The Plant Cell*, Rockville, v. 7, p. 859-868, 1995.

CRISPINO, C. C.; FRANCHINI, J. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLE, R. N. R.; LOUREIRO, M. F. de.; SANTOS, E. N. dos.; CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. Adubação nitrogenada na cultura da soja. Comunicado Técnico 75, Londrina-PR, 2001.

DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; SOLIDARI, G. F. Characterisation of the photosynthetic response of tobacco leaves to ozone: CO₂ assimilation and Chl fluorescence. *Journal of Plant Physiology*, v.159, p. 845-853, 2002.

DIAS, D.P.; MARENCO, R.A. Fotossíntese e fotoinibição em mogno e acariquara em função da luminosidade e temperatura foliar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(3): 305-311, 2007.

EMBRAPA. Arroz e Feijão. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/index.htm>. Acesso em: 30 de abril de 2009.

EMBRAPA. Reunião anual de pesquisa em soja da Região Sul – 2000. Disponível em: www.cnpt.embrapa.br/i_soja.htm. Acesso em: 10 de setembro de 2007.

FOYER, C. H.; PARRY, M.; NOCTOR, G. Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 54, n. 382, p. 585-593. 1990.

FERREIRA, A.C. B. *et al.* Feijão de alta produtividade. *Informe Agropecuário*, v. 25, n. 223, p. 61-72, Belo Horizonte, 2004.

FREITAS, J. G.; CAMARGO, C. E. O.; FERREIRA FILHO, A. W. P. & PETTINELI JUNIOR, A. Produtividade e resposta de genótipo de trigo ao nitrogênio. *Bragantia* 53 (2), p. 281-290, 1994.

FURLANI JR, E.; NAKAGAWA, J.; BULHÕES. L. J.; MOREIRA, J. A. A.; FILHO, H. G. Correlação entre leituras de Cl e níveis de N aplicados em feijoeiro. *Bragantia*, Campinas, v.55, p. 171-175, 1996.

GEORGIEVA, K.; YORDANOV, I. Temperature dependence of chlorophyll fluorescence in pea thylacoid membranes. *J. Plant Physiology*, 142, p. 151-155, 1993.

GOMES, P. A soja. São Paulo: Nobel, 1986. 152p.

HUNGRIA, M.; NEVES, M. C. P.; VICTORIA, R. I. Assimilação do nitrogênio pelo feijoeiro. Absorção e translocação de N mineral e N₂ fixado. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.9, n.1, p. 201-209, 1985.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; CHUEIRE, L. M. O.; GRANGE, L.; MEGIAS, M. Symbiotic effectiveness of fast-growing rhizobial strains isolated from soybean nodules in Brazil. *Biol Fertil Soils*, v. 33, p. 387-394. 2001.

HUPPE, H. C., TURPIN, D. H. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. Palo Alto, v.45, p 577-607, 1994.

KANNAANGARA, C.G. Biochemistry and molecular biology of chlorophyll synthesis. In: BOGORAD, L.; VASIL, I. K. (Ed.). *Cell culture and somatic cell genetics of plants*. San Diego: Academic Press, v.7B, p.301-322, 1991.

KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.42, p. 313-349, 1991.

LIMA, J. D.; MOSQUIM, P. R.; MATTA, F. M. Leaf exchange and chlorophyll fluorescence parameters in *Phaseolus vulgaris* as affected by nitrogen and phosphorus deficiency. *Photosynthetica*, v.37, n.1, p. 113-121, 1999.

LU, C.; ZHANG, J. Photosynthetic CO₂ assimilation, chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *Plant Science*. v. 151, p.135-143, 2000.

MARTINÉZ-CARRASCO, R.; PÉREZ, P.; MORCUENDE, R. Interactive effects of elevated CO₂, temperature and nitrogen on photosynthesis of wheat grown under temperature gradient tunnels. *Environmental Exp. Botany*, v. 45, p. 49-59, 2005.

MATHIS, P.; PAILLOTIN, G. Primary process of photosynthesis. In: HATCH, M.D. & BOARDMAN, N. K. eds. *The biochemistry of plants*. New York, Academic Press, p.97-161, 1981.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. M. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J. Ex. Botany*, v.51, p. 659-668, 2000.

MEIRA, F. A. de; SÁ, M. E.; BUZETTI, S. ARF. O. Doses e épocas de aplicação do nitrogênio no feijoeiro irrigado cultivado em plantio direto. *Pesq. Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.40, n.4, p. 383-388, 2005.

MIRANDA, V.; BAKER, N. R.; LONG, S. P. Limitations of photosynthesis in different regions of the Zea mays leaf. *New. Phytol.*, v.89, p. 179-190, 1981.

OAKS, A., HIREL, B. Nitrogen metabolism in roots. *Annual Review of Plant Physiology*. Palo Alto, v. 36, p. 345-365, 1985.

OLIVEIRA, L. P.; ARAÚJO, R. S.; DUTRA, L. G. Nutrição mineral e fixação biológica do nitrogênio. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*. Potafos, Piracicaba, p. 101-137, 1996.

PÉREZ, P.; MORCUENDE, R.; MANTIN DEL MOLINO, I.; MARTINÉZ-CARRASCO, R. Diurnal changes of Rubisco in response to elevated CO₂, temperature and nitrogen in wheat grown under temperature gradient tunnels. *Environment Exp. Botany*. v. 53, p. 13-27, 2005.

PEUKE, A. D.; JESCHKE, W. D. The uptake and flow of C, N and ions between roots and shoots in *Racinus communis* L. – I: growth with ammonium and nitrate as nitrogen source. *J. Exp. Botany*, London, v. 44, p. 1167-1176, 1993.

PIEKIELEK, W. P.; FOX, R. H.; TOTH, J. D. MACNEAL, K. E. Use of a chlorophyll meter at the early dent stage of corn to evaluate N sufficiency. *Agron. J.*, v. 87, p. 403-408, 1995.

PORTES, T. de A. A emissão de fluorescência pela clorofila a e o balanço de O₂ como parâmetros de determinação da variabilidade genética condicionante da produtividade em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 1990.

PORTES, T. de A. Ecofisiologia. In: ARAÚJO, R. S.; RAVA, C. A. STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*. Piracicaba-SP: Potafos, p. 101-137, 1996.

RYLE, G.J.A.; HESKETH, J.D. Carbon dioxide uptake in nitrogen-deficient plants. *Crop Science*, v.9, p.451-454, 1969.

ROMANO, MARCELO RIBEIRO. Análise de crescimento, produção de biomassa, fotossíntese e biossíntese de aminoácidos em plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) que expressam o gene *Lhcb1*2* de ervilha. 2001. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

ROSOLEM, C. A. Nutrição e adubação do feijoeiro. Piracicaba: Potafos, 93p., 1987.

SHADCHINA, T. M.; DMITRIEVA, V. V. Leaf chlorophyll content as a possible diagnostic mean for the evaluation of plant nitrogen uptake from the soil. *Journal of Plant Nutrition*, Montuello, v.18, n. 7, p. 1427-1437, 1995.

SILVA, C. C.; SILVEIRA, P. M. Influência de sistemas agrícolas na resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigado à adubação nitrogenada de cobertura. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v.30, n.1, p.86-96, 2000.

SILVEIRA, P. M. da S.; BRAZ, A. J. B. PEREIRA; DIDONET, A. D. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1083-1087. 2003.

SORATTO, R. P.; CARVALHO, M. A. C. de.; ARF, O. Teor de clorofila e produtividade de feijoeiro em razão da adubação nitrogenada. *Pesq. Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.39, n. 9, p. 895-901, 2004.

SORATTO, R. P.; CRUSCIOL, A. C.; SILVA, L. M. DA; LEMOS, L. B. Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em sistema de plantio direto. *Bragantia*. Campinas, v. 64, p.211-218, 2005.

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

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J. F. H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, Hague, v. 25, n. 1, p. 47-150, 1990.

ZHANG, C.J.; CHEN, G.X.; GAO, X.X.; CHU, C.J. Photosynthetic decline in flag leaves of two field-grown spring wheat cultivars with different senescence properties. *South African Journal of Botany*, v.72, p.15-23, 2006.

ZOTARELLI, L. et al. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.38, n.9, p.1117-1122. 2003.