

Determinação do Nível Crítico de Mo nos Nódulos de Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)¹

J. Jacob-Neto*, A. Franco**

ABSTRACT

Two experiments were performed in a greenhouse with beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca to determine the critical level of Mo in the nodules of plants dependent on symbiotic nitrogen fixation. The experiments were randomized complete block designs with several treatments of added Mo and two pH levels (4.9 and 5.5) in one experiment. Plants were harvested at early flowering and Mo concentration was determined in the nodules, roots, shoots and seeds. The nitrogenase activity (acetylene reduction) of nodules and total nitrogen in the plant was also determined. At pH 5.5 plants accumulated more Mo than at pH 4.9. Addition of Mo to the soil increased the concentration of Mo in the nodules and the efficiency of the biological nitrogen fixation process. The critical level of Mo determined in the nodule was 3.66 $\mu\text{g Mo.g dry nodules}^{-1}$.

RESUMO

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação com o objetivo de estudar o nível crítico de Mo no tecido nodular de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Carioca, dependente do nitrogênio atmosférico. Os experimentos foram instalados em blocos ao acaso com diferentes níveis de Mo aplicados ao solo, sendo um dos experimentos em dois níveis de pH (4.9 e 5.5). As colheitas foram realizadas no início da floração, sendo feitas determinações da concentração de Mo nos nódulos, raízes, parte aérea e sementes, atividade da nitrogenase dos nódulos e nitrogênio total da parte aérea. Em pH (4.9) o feijoeiro absorveu menos Mo que no pH (5.5), sendo que a adição de Mo ao solo aumentou a concentração de Mo nos nódulos e a eficiência do processo de fixação biológica do nitrogênio. O nível crítico de Mo nos nódulos situou-se a 3.66 $\mu\text{g Mo.g nódulos secos}^{-1}$.

INTRODUÇÃO

Em leguminosas existe o requerimento de Mo para outros processos metabólicos da planta, contudo este requerimento é maior para a redução do nitrato e principalmente para a fixação biológica do nitrogênio (1, 4, 27, 30)

Com relação ao comportamento de Mo no solo, este elemento é extremamente dependente das variações de pH (28, 31) bem como de outros fatores, como material de origem, matéria orgânica e teores de óxidos de ferro e alumínio (2, 22), fazendo com que as determinações de níveis críticos desse elemento, sejam mais difíceis do que para outros micronutrientes. Vários métodos tem sido propostos (13) para extrair Mo do solo, desde que Grigg (11) relacionou Mo extraído com Mo absorvido pelas plantas. Entretanto a maioria desses métodos não apresentam boa correlação com a resposta da planta (13)

Johnson (19) sugeriu que se deva dar prioridade nos estudos com Mo, ao estabelecimento dos níveis críticos desse elemento nos tecidos das plantas.

Na maioria dos trabalhos com leguminosas as análises de Mo tem sido realizadas na parte aérea (10, 20) mesmo sendo os nódulos o local de maior requerimento (8, 16) Johansen (20) em trabalho com diversas leguminosas forrageiras encontrou que a concentração média de Mo na parte aérea foi de 0.02 ppm ou abaixo desse nível, o que dificultava a sua determinação pelo método utilizado no trabalho. Em feijoeiro nas condições de deficiência de Mo, os nódulos apresentam concentrações em torno de 10 vezes maiores que na parte aérea (8, 16) podendo facilitar assim sua determinação. Desta forma este trabalho objetiva determinar o nível crítico de Mo em nódulos de feijoeiro, como indicador de suficiência -- deficiência

¹ Recebido para publicação em 8 de agosto 1988
Projeto parcialmente financiado pela FINEP

* Eng.^o Agrônomo M. Sc., Bolsista do CNPq, Professor do Depto. Fitotecnia, UFRRJ, Km 47 da antiga Rio-SP, 23851, Seropédica, R. J.

** Pesquisador, PhD, EMBRAPA-UAPNPBS, Km 47, 23851, Seropédica, R. J.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação com feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar "Carioca", onde a temperatura média ambiente durante os 2 ciclos das plantas oscilavam em torno de 26°C, não ultrapassando os 33°C. O solo utilizado nos dois experimentos foi um Podzólico Vermelho

Amarelo – proveniente da fazenda Santa Mônica, Valença-RJ, coletado dos primeiros 20 cm de um perfil com cobertura vegetal predominantemente de gramíneas forrageiras.

O solo foi seco ao ar peneirado em malha de 1 cm², homogeneizado e distribuído 50 kg de solo por vaso no 1^o experimento e 35 kg por vaso no 2^o experimento. As análises físicas e químicas do solo foram realizadas com a metodologia descrita no manual de métodos de análises de solo EMBRAPA (6), com os seguintes resultados: pH em H₂O (1:2) 5,5, 0,2 ppm Cu, 0,7 ppm Fe, 0,9 ppm Mn, 0,7 ppm Zn, 0,1 mE/100 ml Al, 3,4 mE/100 ml Ca, 1,8 mE/100 ml Mg, 3 ppm P, 83 ppm K. A adubação foi realizada tomando-se por base 2000 t de solo por hectare, sendo adicionado por quilograma de solo nos 2 experimentos: 0,15 g de MgSO₄·7H₂O; 0,0158 g de CuSO₄·5H₂O; 0,0089 g de ZnSO₄·7H₂O; 0,0003 g de H₃BO₃; 0,02 g de FeSO₄·7H₂O, e separadamente 0,12 g de fósforo e 0,15 g de potássio aplicados como KH₂PO₄.

O solo foi irrigado diariamente com H₂O deionizada para atingir em torno de 80% de sua capacidade máxima de retenção de umidade.

O delineamento experimental utilizado no 1^o experimento foi o de blocos ao acaso com 4 repetições e 5 tratamentos (40, 80, 160, 320 e 640 g ha⁻¹ de Mo). No 2^o experimento foi utilizado um fatorial em delineamento experimental de blocos ao acaso com dois níveis de pH (4,9 e 5,5) e 5 níveis de Mo (0, 20, 40, 80 e 160 g ha⁻¹ de Mo). Para baixar o pH do solo foi utilizada como base uma curva de acidificação por incubação do solo com ácido sulfúrico por 72h, sendo a leitura de pH realizada em H₂O (1:2).

As sementes em ambos os experimentos foram inoculadas no momento do plantio com uma mistura de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* CO.5 (CENA-Piracicaba-SP) + SEMIA 487 (IPAGRO-RS), crescidas em meio extrato de levedura agarizado (YMA) descrito por Vincent (32) semi-sólido, adicionando aproximadamente 10⁷ células por semente. Foram plantadas 4 sementes contendo 0,019 µg Mo semente⁻¹ em cada vaso e logo após a germinação foi realizado o desbaste deixando-se 2 plantas por vaso.

Após o plantio, o molibdênio foi aplicado sobre as sementes, na forma de molibdato de sódio. Nos dois experimentos foi realizada uma colheita no início da floração. No segundo experimento foi efetuada ainda uma colheita no final do ciclo, sendo determinado o peso e concentração de Mo nas sementes. As plantas foram cortadas rentes ao solo e após secagem em estufa com circulação de ar a 60°C por 72 horas,

foram determinadas na parte aérea nitrogênio total (21) e a concentração de molibdênio (18).

O sistema radicular com os nódulos foram separados do solo, determinando-se a atividade da nitrificação pelo método de redução de C₂H₂, após incubação por 5 minutos (24). Posteriormente os nódulos foram destacados das raízes e ambos rigorosamente lavados com água deionizada, e feita a determinação de Mo como descrito anteriormente.

RESULTADOS

No experimento 1 (Tabela 1) a concentração de Mo nos nódulos aumentou de acordo com a adição de Mo, havendo uma tendência de estabilização com a adição de 320 g Mo ha⁻¹. Não havendo diferenças quanto ao Mo total dos nódulos por planta. Quanto aos demais parâmetros estudados, somente o peso de nódulos e N total acumulado nas plantas mostraram resposta entre o nível zero e os níveis de Mo aplicados. Estes resultados indicaram a necessidade de tratamentos com níveis mais baixos de Mo. Os resultados do segundo experimento mostraram que ocorreram efeitos individuais do pH e das dosagens de Mo na concentração de Mo nos nódulos, mas a interação entre esses dois fatores não foi significativa (Fig. 1, Tabela 2). A adição de Mo ao solo aumentou linearmente a concentração desse elemento nos nódulos das plantas, em ambos os níveis de pH (pH 4,9 r² = 0,99; pH 5,5 r² = 0,93). Não ocorrendo diferença significativa (Tukey p = 0,05) entre os níveis zero e 40 g Mo ha⁻¹ na análise isolada do pH 4,9, contudo ocorreram diferenças significativas pelo teste Tukey (p = 0,05) do nível zero (s/adicação Mo) para os demais, no pH 5,5. As mesmas variações acima foram observadas

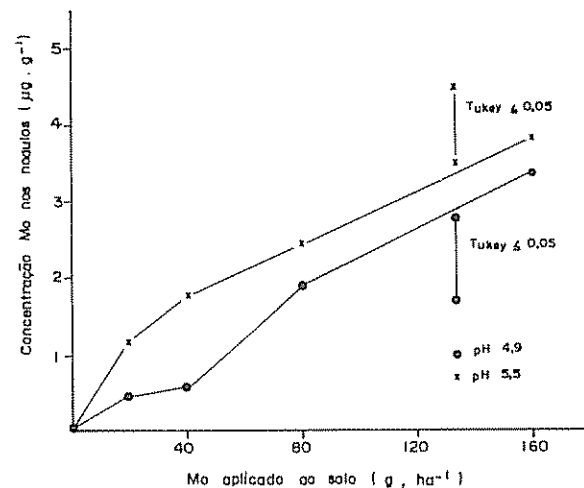


Fig. 1 Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, na concentração de Mo nos nódulos (cada ponto é média de 5 repetições)

para o total de Mo nos nódulos (Fig. 2), mas não para o peso de nódulos (Fig. 6).

As concentrações de Mo encontradas nas raízes (Fig. 3) foram menores do que as encontradas nos nódulos, principalmente nos tratamentos de zero a 40 g ha⁻¹ de Mo, em ambos valores de pH. Nesta faixa as concentrações de Mo nas raízes foram muito pequenas, o que dificultou as análises de Mo pelo método utilizado no trabalho. A partir da dosagem de 40 g ha⁻¹ de Mo ocorreu um aumento súbito da concentração de Mo nas raízes, mas mesmo assim com valores em torno de 50% dos encontrados nos nódulos.

Os valores máximos da atividade da nitrogenase (Fig. 4 e 5) no pH 5.5 foram atingidos na dosagem de 40 g ha⁻¹ de Mo, sendo que neste tratamento a concentração de Mo nos nódulos foi de 1 82 µg Mo g nódulos secos⁻¹. Existiu efeito altamente significativo das dosagens de Mo na atividade da nitrogenase, contudo o efeito do pH só foi significativo na atividade específica da nitrogenase (Fig. 5), mesmo assim apenas na dosagem de 40 g ha⁻¹ de Mo (Tabela 2).

Os maiores valores dos pesos de nódulos ocorreram sempre no pH 4.9 (Fig. 6), existindo também efeito altamente significativo das dosagens de Mo. Na análise estatística isolada de cada pH, foi possível verificar que no pH 5.5 a partir da dosagem de 20 g ha⁻¹ de Mo não mais existiram diferenças significativas (Tukey p = 0.05) entre os pesos de nódulos.

O peso da parte aérea (Fig. 7) foi diretamente influenciado pelas dosagens de Mo, sendo também significativa a interação pH x Mo. Não existindo diferen-

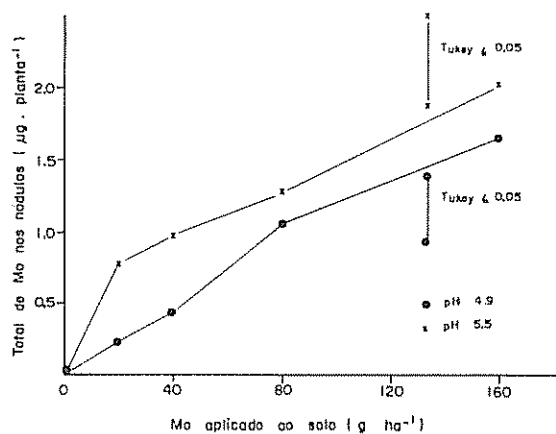


Fig. 2. Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, no total de Mo nos nódulos (cada ponto é média de 5 repetições)

ças estatísticas significativas entre os pesos de raízes (Fig. 8) para nenhum parâmetro testado.

Com relação ao nitrogênio total na parte aérea (Fig. 9) não foram observados efeitos do pH sobre o conteúdo de nitrogênio, mas as dosagens de Mo foram importantes no aumento do teor de nitrogênio na parte aérea. Na análise isolada de cada pH, verificou-se pelo teste Tukey (p = 0.05) que no pH 4.9, não ocorreram diferenças entre os conteúdos de nitrogênio das dosagens zero à 40 g ha⁻¹ de Mo e entre 80 e

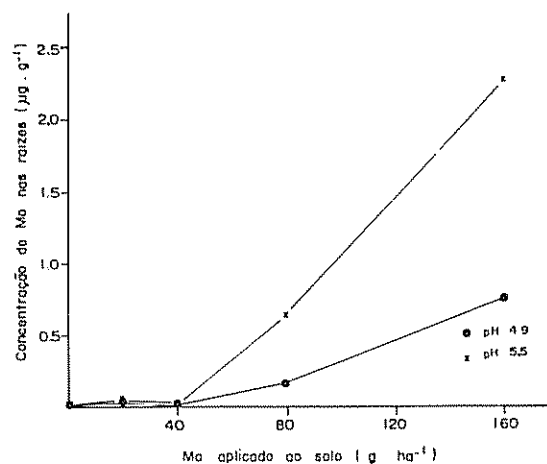


Fig. 3. Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, na concentração de Mo nas raízes (cada ponto é média de 5 repetições).

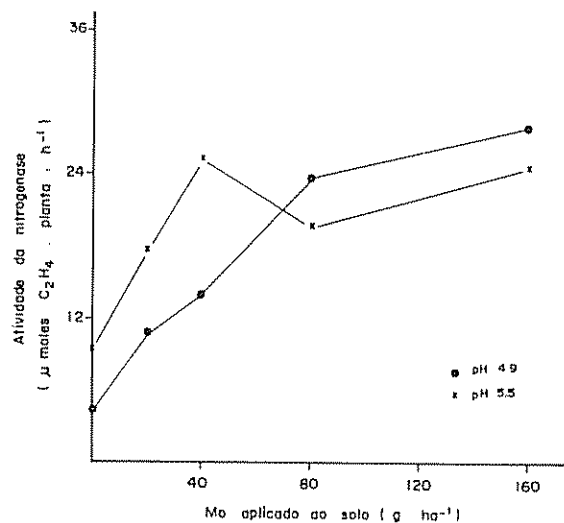


Fig. 4. Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, na atividade da nitrogenase por planta (cada ponto é média de 5 repetições)

160 g.ha⁻¹ de Mo. Sendo que no pH 5.5 já a partir de 40 g.ha⁻¹ de Mo não mais existiram diferenças entre os teores de nitrogênio total. A equação que melhor definiu o acúmulo de nitrogênio de acordo com as dosagens de Mo no pH 5.5 foi: $y = 36.447 + 2.167x - 0.009x^2$ ($r^2 = 0.95$) de onde pode ser estimado que o máximo de acumulação de N na parte aérea de 160.30 mg.planta⁻¹ poderia ser obtida com a aplicação de 114.3 Mo.ha⁻¹. Para o pH 4.9 a equação foi: $y = 49.839 + 0.773x$ ($r^2 = 0.80$) mostrando que neste pH mesmo nos níveis mais altos ainda não havia atingido resposta máxima.

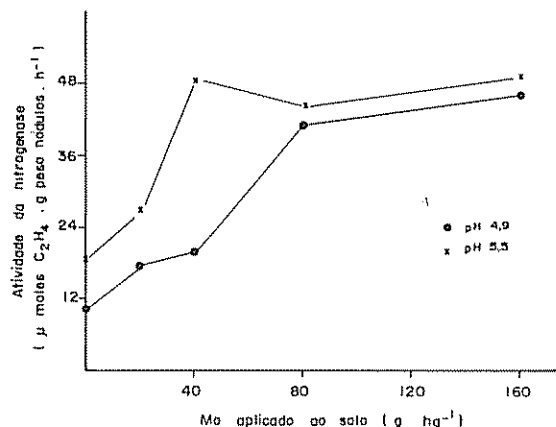


Fig. 5 Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, na atividade específica da nitrogenase. (cada ponto é média de 5 repetições).

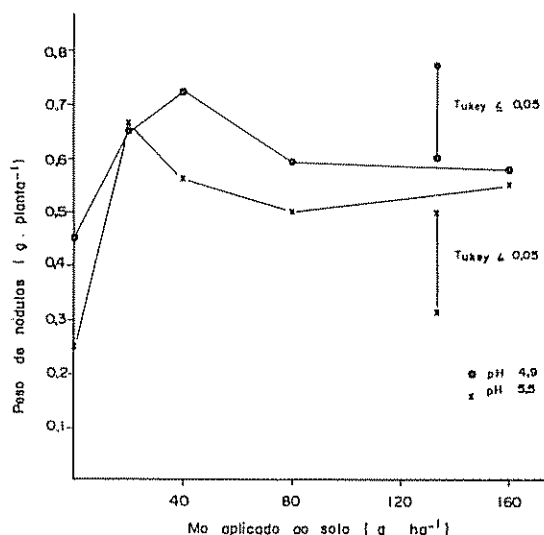


Fig. 6. Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, no peso de nódulos (cada ponto é média de 5 repetições).

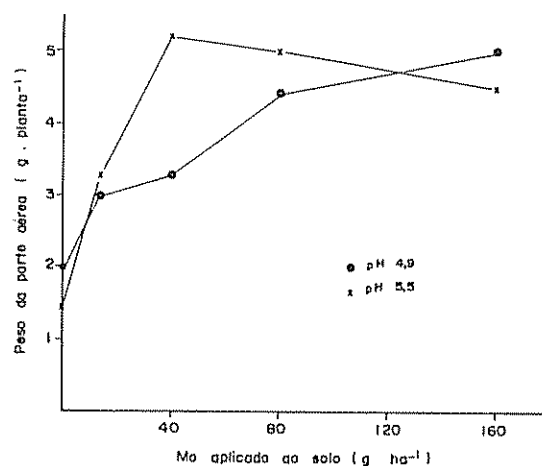


Fig. 7. Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, no peso da parte aérea. (cada ponto é média de 5 repetições).

Na Fig. 10 foi correlacionado o nitrogênio total na parte aérea com as concentrações de Mo nos nódulos. Observou-se que nos valores mais baixos de Mo existiu uma correlação linear entre essas duas concentrações, contudo acima de 3.66 µg Mo g nódulos secos⁻¹, não havia mais resposta do acúmulo de nitrogênio com o aumento da concentração de Mo nos nódulos. Esta concentração (3.66 µg Mo g nódulos secos⁻¹) corresponde ao ponto de inflexão da curva.

Os pesos de sementes por planta (Fig. 11) foram influenciados pelos valores de pH e pelas dosagens de Mo, sendo também significativa a interação Mo x pH. Os maiores valores dos pesos de sementes foram encontrados no pH 5.5.

Pela metodologia usada e com o material disponível, só foi possível detectar Mo nas sementes provenientes dos níveis 80 e 160 g.ha⁻¹ de Mo no pH 4.9 e a partir de 40 g.ha⁻¹ no pH 5.5 (Tabela 3). O mesmo ocorreu com a concentração de Mo na parte aérea (dados não apresentados), no pH 5.5.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no primeiro experimento indicaram que as dosagens de Mo para determinação do nível crítico, deveriam ser ampliada na faixa inferior, o que foi realizado no segundo experimento.

As concentrações de Mo nos nódulos da planta de feijoeiro no segundo experimento, variaram com o pH e com as dosagens de Mo, não sendo significativa a interação pH x Mo, indicando que esses fatores agiram independentemente sobre o conteúdo de Mo nos nódulos (Fig. 1, Tabela 2). As maiores concen-

Tabela 1. Resultados da colheita realizada na floração do experimento I (Médias de 4 repetições com 2 plantas por vaso).

Tratamento g.ha ⁻¹ de Mo	Concentração (µg Mo)		Peso (g.planta seca ⁻¹)			ARA ^a (µmoles C ₂ H ₄)		Nitrogênio total parte aérea (mg.planta ⁻¹)
	g nódulos secos ⁻¹	nos nódulos planta ⁻¹	nódulo	raiz	parte aérea	planta	g.nódulos	
40	2.27 d	0.71	0.32 a	0.35	3.61	2.33	7.34	81.47 b
80	5.16 cd	0.97	0.16 b	0.55	4.93	0.98	7.64	99.72 ab
160	7.23 bc	1.25	0.19 b	0.51	4.21	1.86	9.31	112.69 ab
320	12.79 a	2.14	0.18 b	0.61	3.74	1.88	11.22	110.65 ab
640	11.51 ab	1.64	0.14 b	0.38	4.35	1.34	12.93	131.77 a
Tukey (5%)	4.53	1.77	0.10	0.28	1.45	1.36	8.70	41.6
C.V. (%)	26	47	24	24	15	36	40	17

a Atividade da nitrogenase medida pela redução do acetileno com incubação de 5 minutos

trações de Mo foram encontradas no pH 5.5 e aumentaram linearmente com a adição de Mo. Franco e Day (7) verificaram que as respostas à simbiose à fertilização com Mo foram dependentes do pH, sendo significativa a interação Mo x calagem. Contudo Franco e Munns (8) não encontraram efeito do pH nem da interação pH x Mo, mas encontraram efeito significativo das dosagens de Mo na concentração de Mo nos nódulos. A diminuição do pH como ocorrido neste trabalho, pode ter afetado a absorção de cátions e ânions pelas raízes, bem como a sobrevivência e multiplicação de *Rhizobium* na rizosfera (3) e iniciação dos nódulos (9). Os maiores valores de pesos de nódulos foram encontrados no pH 4.9 provavelmente devido a deficiência de Mo. Com o abaixamento do

pH as formas de Mo devem ter sido adsorvidas nos colóides do solo (31) ficando menos disponíveis para as plantas. Mulder (26) verificou que o número de nódulos de trevo e alfafa cultivados em solos deficientes de Mo, eram maiores do que quando cultivados em solos com suprimento de Mo, todavia eram nódulos menos eficientes, como ocorreu aqui neste trabalho (Fig. 5). Outros autores também tem observado o mesmo (5, 7).

Os menores valores da atividade da nitrogenase encontrados nos níveis mais baixos de Mo (Figs. 4 e 5) caracterizam a importância desse elemento para essa atividade enzimática. Apesar dos altos coeficientes de variação geralmente encontrados e das críticas que se

Tabela 2. Análise de variância (Valores F) do experimento I. Colheitas na floração plena.

Fonte de Variação	Concentração de Mo (µg)			ARA ^a (µmoles C ₂ H ₄)		Peso (g planta seca ⁻¹)				Nitrogênio total parte aérea (mg.planta ⁻¹)
	g.nódulo ⁻¹	No. nódulos planta ⁻¹	g.raízes ⁻¹	planta	g.nódulos secos ⁻¹	nódulo	raiz	parte aérea	sementes ^b	
Dosagem de Mo	60.45**	64.23**	39.88**	14.35**	7.41**	10.30**	2.37	29.21**	22.58**	43.53**
pH	14.51**	18.82**	19.62**	3.07	5.03*	8.25**	2.31	2.31	13.23**	0.74
pH x dosagem Mo	1.51	1.84	10.00**	2.99*	1.16	1.40	0.93	4.88**	2.95*	2.86*
C.V. (%)	36	32	83	32	45	21	23	20	48	24

a Atividade da nitrogenase medida pela redução do acetileno, por um período de incubação de 5 minutos em plantas colhidas 36 dias após o plantio

b Colheita realizada no final do ciclo (g.planta⁻¹).

* P ≤ 0.05

** P ≤ 0.01

fazem a essa medida enzimática (25, 33) seus valores neste trabalho estão de acordo com os trabalhos de Franco e Day (7) e Hungria (15). Ocorreu uma tendência de aumentar a concentração de nitrogênio na parte aérea e a atividade da nitrogenase com o aumento das dosagens de Mo

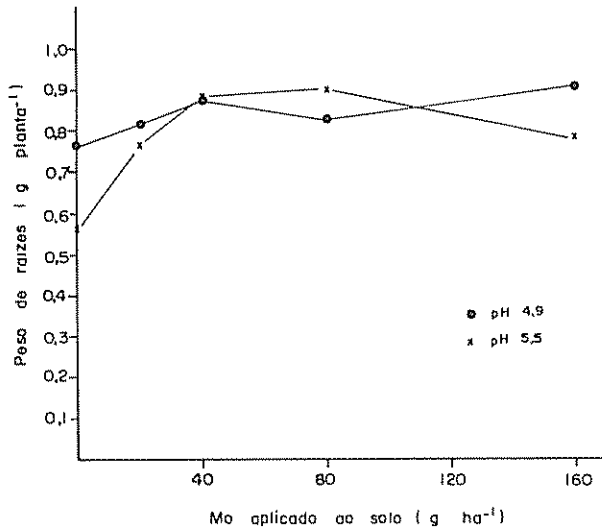


Fig 8 Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, no peso de raízes (cada ponto é média de 5 repetições)

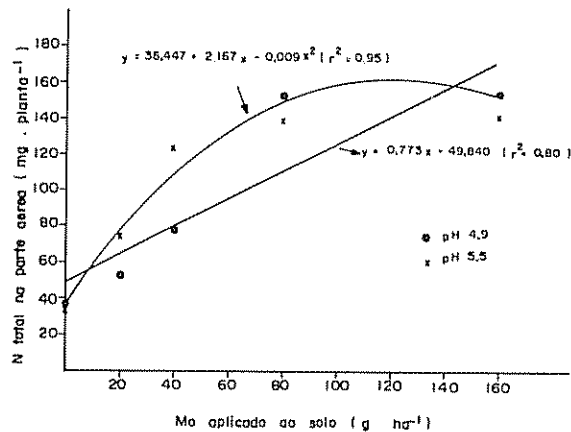


Fig 9 Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH; no nitrogênio total da parte aérea (cada ponto é média de 5 repetições)

Tabela 3. Concentração de Mo nas sementes de feijão adubado com diferentes dosagens de Mo (Média de 4 repetições).

pH do solo	Dosagem de Mo aplicada ao solo em g.ha ⁻¹	µg Mo.g sementes ⁻¹	µg Mo. semente
4,9	40	nd ^a	nd
	80	0,22 ± 0,08 ^b	0,05 ± 0,02
	160	0,40 ± 0,05	0,09 ± 0,02
5,5	40	0,14 ± 0,08	0,03 ± 0,02
	80	0,35 ± 0,09	0,08 ± 0,01
	160	0,79 ± 0,22	0,13 ± 0,04

a nd - não detectável pelo método utilizado

b desvio padrão das médias

Os resultados da concentração de Mo nas raízes confirmam os dados obtidos por Franco e Munns (8) e de Jacob-Neto *et al* (16) onde se observou menores concentrações de Mo nas raízes do que nos nódulos. O mesmo ocorreu com a parte aérea e sementes, onde só foi possível detectar Mo a partir de aplicação de 80 g.ha⁻¹ no pH 5,5. Mesmo assim na parte aérea só foi detectado Mo quando foi utilizado acima de 4 g de matéria seca para se fazer análise. A concentração encontrada na parte aérea na dosagem de 160 g.ha⁻¹ de Mo no Ph 5,5 foi de 0,47 µg Mo.g parte aérea seca⁻¹, resultado este próximo do encontrado por Johnson *et al* citado em Gupta e Lipsett (13) como suficiente para o desenvolvimento de plantas de feijão. Os resultados encontrados nas raízes, parte aérea e

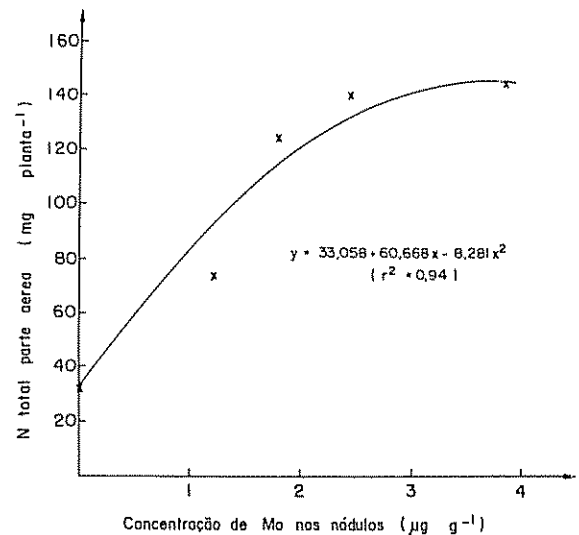


Fig 10 Efeito da concentração de Mo nos nódulos no nitrogênio total da parte aérea, no pH 5,5 (cada ponto é média de 5 repetições)

sementes, indicam que se deva utilizar os nódulos para determinar o nível crítico de Mo em leguminosas fixando nitrogênio atmosférico.

No primeiro experimento o nível crítico de Mo nos nódulos para máxima acumulação de N em plantas dependentes da simbiose ficou entre 2,27 e 5,16 $\mu\text{g Mo.g nódulos secos}^{-1}$. Com os resultados do segundo experimento foi possível determinar com mais precisão o valor de 3,66 $\mu\text{g Mo.g nódulos secos}^{-1}$ que está dentro da faixa de 3 a 5 $\mu\text{g Mo.g nódulos secos}^{-1}$ sugerida por Franco e Munns (8).

Franco e Day (7) verificaram que além da adição de Mo neste solo, a calagem exercia um importante papel no aumento de produção do feijoeiro, quando o pH foi elevado acima de 5,8. A calagem pode eliminar a deficiência de Mo pela liberação deste elemento dos colóides para a solução do solo (13, 17) facilitando desse modo a absorção pelas plantas. Autores como Parker e Harris (27), Hawes *et al.* (14), Gupta e Kunelius (12) e Franco e Munns (8) demonstraram a importância da calagem no aumento da concentração de Mo nos tecidos das plantas. Em teste

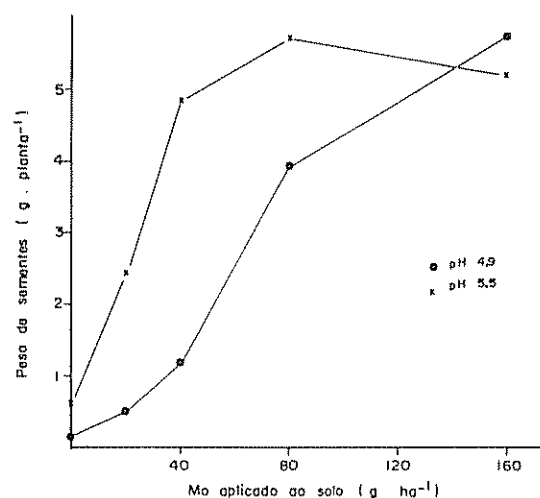


Fig. 11 Efeito da aplicação de Mo ao solo e do pH, no peso de sementes por planta (cada ponto é média de 5 repetições).

realizado em separado com este solo, foram adicionados 500 kg ha⁻¹ de calcário dolomítico elevando-se o pH para 5,9, utilizando-se as mesmas adubações dos experimentos I e II, sem adicionar Mo. Através deste teste foi possível verificar que as plantas de feijão não apresentavam qualquer sintoma de deficiência de nitrogênio, sendo encontrado nos nódulos a concentração de $1,84 \pm 0,2 \mu\text{g Mo.g nódulos secos}^{-1}$. Esta concentração está um pouco abaixo do nível crítico de Mo nos nódulos estabelecidos neste trabalho, provavelmente porque a adição do calcário também aumentou a liberação do nitrogênio do solo (29) tornando as plantas menos dependentes do nitrogênio atmosférico. Por outro lado em pH baixo (5,1), até a floração, as plantas não foram beneficiadas pela adição de altas concentrações de Mo (2,0 kg ha⁻¹) (7) indicando que nesta faixa de pH outros fatores limitaram a simbiose.

As condições artificiais usadas para o abaixamento do pH (tratamento pH 4,9) através da adição de ácido sulfúrico, que tem sido frequentemente utilizado em estudos de tamponamento de solos (23) deve ter provocado importantes modificações nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo. Conclusões, portanto, neste pH, devem ser tiradas com reservas. O suprimento de enxofre pode ter contribuído para a falta de resposta significativa na acumulação de nitrogênio nas plantas entre pH 4,9 e 5,5 no experimento II (Fig. 9). Entretanto apesar das dificuldades normalmente encontradas no estabelecimento de níveis críticos, principalmente de elementos como o Mo, necessários em pequenas quantidades (13) e cujas concentrações são alteradas com a idade da planta (16), algumas conclusões podem ser tiradas deste trabalho:

- Em condições de pouca disponibilidade de Mo no solo, as plantas acumularam mais Mo nos nódulos do que nas demais partes da planta
- No solo com pH mais baixo (4,9) o feijoeiro absorveu menos Mo que no pH mais alto (5,5).
- O nível crítico de Mo nos nódulos do feijoeiro no início da floração situou-se em torno de 3,66 $\mu\text{g Mo.g nódulos secos}^{-1}$.

LITERATURA CITADA

- 1 ANDERSON, A.J.; SPLNCR, D 1949. Molybdenum and sulphur in symbiotic nitrogen fixation Nature 164:273-274
2. BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; VALADARES, J.M.A.S 1976. O molibdênio em solos do Estado de São Paulo. In Congresso Brasileiro de Ciência Do Solo 15, 1975, Campinas, Bra.) Anais. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo p 107-111
- 3 CARVALHO, M.M. DE 1978. A comparative study of the responses of six stylosanthes species to acid soil factors with particular reference to aluminium. Tese Doutorado. University of Queensland. 287 p.
4. CLARKSON, D.T.; HANSON, J.B 1980 The mineral nutrition of higher plants Annual Review of Plant Physiology 31:239-298.
5. DE-POLLI, H.; SUHET, A.R.; FRANCO, A.A 1976 Micronutrientes limitando a fixação de nitrogênio atmosférico e produção de centrosema em solo Podzólico Vermelho-Amarelo. In Congresso Brasileiro de Ciência do Solo (15, 1975, Campinas, Bra.) Anais. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo p 151-156
6. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA SERVIÇO NACIONAL DE LEVANTAMENTO E CONSERVAÇÃO DE SOLOS 1979 Manual de Métodos de Análise do Solo. Rio de Janeiro, Bra
- 7 FRANCO, A.A.; DAY, J.M. 1980. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in acid soils of Brasil Turrialba (C.R.) 30(2):99-105
8. FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. 1981 Response of *Phaseolus vulgaris* L. to molybdenum under acid conditions. Soil Science Society of America Journal 45:1144-1148.
9. FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. 1982 Acidity and aluminum restraints of nodulation, nitrogen fixation and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. Soil Science Society of America Journal 46:296-301
- 10 GLADSTONES, J.S.; LONERAGAN, J.F.; GOODCHILD, N.A 1977. Field responses to cobalt and molybdenum by different legumes species with inferences on the role of cobalt in legume growth Australian Journal of Agricultural Research 28: 621-626
- 11 GRIGG, J.L 1953. Determination of the available molybdenum in soil New Zealand Journal of Science and Technology, Section A 34:405-414.
12. GUPTA, U.C.; KUNELIUS, H. 1980 Effect of molybdenum, lime and cropping on the yield and molybdenum concentration of grass-legume mixture and cabbage. Canadian Journal of Plant Science 60: 113-120.
- 13 GUPTA, U.C.; LIPSETT, J. 1981 Molybdenum in soils, plants and animals. Advances in Agronomy 34:73-115.
14. HAWES, R.L.; SIMS, J.L.; WELLS, K.L 1976. Molybdenum concentration of certain crop species as influenced by previous applications of molybdenum fertilizer. Agronomy Journal 68:217-218.
15. HUNGRIA, M. 1985. Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em *Phaseolus vulgaris* L. Tese Doutorado Rio de Janeiro, UFRJ. 292 p.
- 16 JACOB-NLTO, J.; THOMAS, R.J.; FRANCO, A.A. 1988 Variação estacional da concentração de molibdênio nos nódulos e demais partes da planta de feijociro (*Phaseolus vulgaris* L.). Turrialba C.R. 38(1):51-58
- 17 JAMES, D.W.; JACKSON, I.L.; HARWARD, M.E. 1968. Effect of molybdenum and lime on the growth and molybdenum content of alfafa grown on acid soils. Soil Science 105:397-401
- 18 JOHNSON, C.M.; ULRICH, A. 1959. Analytical methods for use in plant analysis. California Agricultural Experiment Station Bulletin no. 766
19. JOHNSON, C.M 1973. Molybdenum In Diagnostic criteria for plants and soils. Ed by Chapman, H.D. California Riverside, University of California, Division of Agricultural Science p. 286-301
20. JOHASEN, C. 1978. Comparative molybdenum concentration in some tropical pasture legumes. Communications in Soil Science and Plant Analysis 9:1009-1017
21. LIAO, C.F.H 1981 Devarda's alloy method for total nitrogen determination. Soil Science Society of America Journal 45:852-855
22. LINDSAY, W.L. 1978. Chemical reaction affecting the availability of micronutrients in soils. In Mineral nutrition of legumes in tropical and subtropical soils. Ed by Andrew, C.S.; Kamprath, E.J. Australia, CSIRO p 153-163.
23. MAGDOFF, F.R.; BARTLETT, R.J. 1985. Soil pH buffering revised. Soil Science Society of America Journal 49:145-148.
24. MAGUE, T.H.; BURRIS, R.H 1972 Reduction of acetylene and nitrogen by field grown soybeans New Phytologist 71:275-276.
25. MINCHIN, F.R.; WITTY, J.F.; SHEENY, J.E.; MULLER, M.A. 1983 A major error in the acetylene reduction assay: decreases in nodular nitrogenase activity under assay conditions. Journal of Experimental Botany 34:641-649
26. MULDER, E.G 1954. Molybdenum in relation to growth of higher plants and microorganisms Plant and Soil 5:368-415
27. PARKER, M.B. HARRIS, H.B. 1977. Yield and leaf nitrogen of nodulating and nonnodulating soybeans as affected by nitrogen and molybdenum. Agronomy Journal 69:551-554

28. REISENAUER, H.M.; TABIKH, A.A.; STOUT, P.R. 1962. Molybdenum reactions with soils and the hydrous oxides of iron, aluminum and titanium. Soil Science Society of America. Proceedings 26: 23-27.
29. SAMARÃO, S.S.; DIDONET, A.D.; NEIVA, L.C.S.; DUQUE, F.F.; GOI, S.R.; JACOB-NETO, J.; MONTEIRO, P.M.F.O.; ROLIN, R.D. 1986. Influência da calagem e micronutrientes na nodulação da soja por *Rhizobium japonicum* em solos ácidos. Pesquisa Agropecuária Brasileira 21(3):237-244.
30. SHAH, V.K.; UGALDE, R.A.; IMPERIAL, J.; BRILL, U.J. 1984. Molybdenum in nitrogenase. Annual Review Biochemistry 53:231-257.
31. SIQUEIRA, C.; VELLOSO, A.C. 1978. Adsorção de molibdato em solos sob vegetação de cerrado. Revista Brasileira de Ciência do Solo 2:24-28.
32. VINCENT, J.M. 1970. Manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford, IBP, Blackwell Scientific Publication. 164 p. (IBP Handbook no. 15).
33. WITTY, J.F.; MINCHIN, F.R.; SHEENY, J.E. 1983. Carbon costs of nitrogenase activity in legume root nodules determined using acetylene and oxygen. Journal of Experimental Botany 34:951-963.

Comparison of Two Breeding Methods in Corn. III. Yield of Selected Fourth-Cycle Lines from Each Population and Method¹

J.A. Morera*

ABSTRACT

To compare the two breeding methods, a mix of fourth-cycle lines from each population and method were tested at two locations. The overall yield performance was better with the S₂ progeny method than with the testcross method. These results suggest that the two methods emphasize different types of gene action and that overdominant gene action may exist at some loci.

COMPENDIO

Para comparar los dos métodos de mejoramiento, una mezcla de líneas seleccionadas del cuarto ciclo procedente de cada población y método fueron probadas en dos localidades. El comportamiento en rendimiento total fue mejor con el método de líneas autofecundadas que con el método de cruza de prueba. Esos resultados, sugieren que los dos métodos enfatizan diferentes tipos de acción de genes y que genes overdominantes pueden existir en algunos loci.

INTRODUCTION

The objective of this paper is to report additional information on the value of S₂ progeny selection in comparison with selection based on testcross performance. One method is based on performance of S₂ lines since selfed progeny evaluation avoids the masking effect of testers (resulting in

higher heritability estimates). The second method is based on the performance of testcrosses involving S₂ lines crossed with an inbred tester.

Reports from Genter and Alexander (2) and Burton *et al* (1) indicated that dominant genes of the tester may mask genetic differences between lines. S₁ line selection has been suggested to solve this difficulty. However, increases in the frequencies of favorable alleles at those loci affecting grain yield should be greater with S₂ selection than with S₁ line selection since, at $p = 0.5$, additive variance among S₂ lines is 1.5 times as large as among S₁ lines (3).

Horner *et al* (4) evaluated five cycles of recurrent selection using an inbred line and the parental popula-

¹ Received for publication 10 May 1988.

The present work is adapted from the author's Ph.D. thesis, supported by the German Academic Exchange Service. I wish to express my thanks to Dr. E.S. Horner, University of Florida, for encouragement and assistance, and to the Tropical Agricultural Research and Training Center (CATIE/GTZ) for granting the leave of absence required for the the program.

* Plant breeder, calles 7-9, Avenida O, Alajuela, Costa Rica.