# **UFRRJ**

# INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

## **TESE**

EFEITO DA FONTE DE NITROGÊNIO NA LIBERAÇÃO DE OH'/H<sup>+</sup> NA RIZOSFERA E A INTERAÇÃO COM TOXIDEZ DE ALUMÍNIO, ESTRESSE DE SALINIDADE E ASSOCIAÇÃO COM *Trichoderma sp.* 

## ALDIR CARLOS SILVA

2013



# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

# EFEITO DA FONTE DE NITROGÊNIO NA LIBERAÇÃO DE OH/H<sup>+</sup> NA RIZOSFERA E A INTERAÇÃO COM TOXIDEZ DE ALUMÍNIO, ESTRESSE DE SALINIDADE E ASSOCIAÇÃO COM *Trichoderma sp.*

#### ALDIR CARLOS SILVA

Sob a Orientação do Professor

Jorge Jacob Neto

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Área de concentração de Fisiologia da produção.

Seropédica, RJ Dezembro, 2013 572.545

S586e

Silva, Aldir Carlos, 1976-

Т

Efeito da fonte de nitrogênio na liberação de OH-/H+ na rizosfera e a interação com toxidez de alumínio, estresse de salinidade e associação com *Trichoderma sp.* / Aldir Carlos Silva - 2013.

148 f.: il.

Orientador: Jorge Jacob Neto.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Bibliografia: f. 112-130.

1. Nitrogênio - Fixação - Teses. 2. Alumínio - Teses. 3. Salinidade - Teses. 4. Trichoderma - Teses. 5. Plantas - Efeito do nitrogênio - Teses. 6. Plantas - Efeito do alumínio - Teses. I. Jacob Neto, Jorge, 1955-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

# UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO DE AGRONOMIA CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

## ALDIR CARLOS SILVA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Área de concentração em Fisiologia da produção.

TESE DE DOUTORADO APROVADA 19/12/2013
Jorge Jacob Neto (Ph.D.) - UFRuralRJ - (Orientador)
Everaldo Zonta (Ph.D.) – UFRuralRJ
Silvia Regina Goi (Ph.D.) - UFRuralRJ
Eliane Maria Ribeiro da Silva (Ph.D.) - EMBRAPA
Vera Lucia D. Baldani (Ph.D.) - EMBRAPA

## Dedicatória.

A minha esposa, Luciene.

Aos meus filhos, Francisco e Antônio.

Aos meus Pais, irmãos e amigos.

Dedico esta Tese, fruto de longas horas de trabalho, mas que às vezes senti saudade de estar na presença destas pessoas que gosto muito.

## Agradecimentos.

A Deus, por me dar coragem nesta jornada.

Ao meu orientador Prof Jorge Jacob Neto, pelo ensino, amizade e paciência.

Ao Prof Marco Antonio da Silva Vasconcellos, pelo carinho e ensinamentos.

Aos Membros do Laboratório Química da Rizosfera. Joice, Valeria, Marçao, Nubia, Natalia, Alessandra. Sempre prontos para ajudar.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Aos Funcionários do Instituto de Agronomia.

Ao CNPQ pelo financiamento do projeto,

Ao Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia pela concesão da bolsa de estudos.

Ao Projeto Petrobio

A Heliagro Science and Crops, pelo fornecimento de material genético.

Ao Projeto de Light

#### **BIOGRAFIA**

Nasci na cidade de Resende, município do estado do Rio de Janeiro, cresci no bairro Fazenda da Barra 2 e minha família ainda mora lá. E foi lá que durante a infância tive contato com o mundo agronômico, do plantio a pós-colheita de alimentos, produção animal, arborização urbana, já que no meu quintal tinha um monte de coisas e atividades ligadas a Engenharia Agronômica e por incrível que pareça, este quintal é uma área de 30 por 30m. Meu Pai foi o primeiro Engenheiro Agronomo que vi em atividade, Ele não tem formação, mais merecia um titulo honoris causa de Agronômo, pois realizava planejamentos para que tivesemos hortaliças, frutas, ovos e carne de frango e suína durante o ano todo, isto tudo dentro deste quintal.

No meu bairro também tem uma escola, e foi lá que estudei do pré-escolar ate a oitava serie, e neste período, no ginásio tive uma professora de Ciências, a Sra Madalena e com ela aprendi a investigar e procurar o porquê das coisas e também realizei meus primeiros experimentos científicos. Durante o segundo grau, cursei escola Agrotecnica, no Bairro de Penedo, no município de Itatiaia, e neste período foi muito intenso o aprendizado de Técnico em Agropecuaria, cada dia um saber novo e os professores muito dedicados a nos ensinar e com isso a Engenharia agronômica virou um sonho que se concretizou quando passei no vestibular para a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada na cidade de Seropédica.

Durante a graduação de Engenheiro Agronômo, aprendi que a nossa função como Engenheiro Agronomo e promover desenvolvimento sustentável, mas grantindo que as atividades sejam, ecologicamente corretas, socialmente justas e economicamente viáveis. E neste período duas pessoas foram importante, os Professores de fruticultura: Marco Antônio e Rubens Busquet, com quem fiz estagio durante os cinco anos de gradução e com eles período aprendi a postura correta de um bom profissional, como também planejamento, elaboração e condução de projetos e experimentos científicos. Com isso o caminho para a pós gradução estava construído, já que tinha experiência com pesquisa, publicações de artigos e até capitulo em livro.

A pós graduação foi também mais um período de aprendizado intenso e muita dedicação. E tudo era novo, desde a linha de pesquisa ao orientador, que aqui também fez a diferença. Durante o Mestrado e Doutorado fui orientado pelo Prof Jorge Jacob Neto, vivenciando uma experiência maravilhosa sobre nutrição mineral de plantas. Assim a pesquisa se consolidou como parte do meu mundo profissional e também pessoal. Foram varias horas no silêncio do laboratório avaliando o estádio fisiológico e morfológico das plantas, quando foram submetidas as diferentes condições experimentais para serem selecionados os seus níveis de tolerância ou sensibilidade ao alumínio, salinidade.

Enfim o período de formação terminou, mais na verdade foi só o começo de uma nova etapa que vai ocorrer por toda a minha vida. Durante todos esses anos fiz grandes amigos, que tornaram-se irmãos e estarão sempre ao lado esquerdo do peito, mesmo com a distancia.

# SUMÁRIO

1	INTRO	<b>DDUÇÃO</b> 1
	1.1	OBJETIVO GERAL2
2	REVI	SÃO DE LITERATURA
	2.1	Balanço iônico em plantas
	2.1.1	O papel do nitrogênio
	2.2	Efeito fisiológico da toxidez causada pelo alumínio
	2.4	Aplicação foliar de nutrientes
	2.5	Utilização do fungo <i>Trichoderma</i> na atividade agrícola
	2.6	Considerações sobre as plantas avaliadas neste trabalho
	2.6.1	Café
	2.6.2	Girassol
	2.6.3	Maracujá22
	2.6.4	Amendoeira
	2.6.5	Sombreiro23
	2.6.6	Abacaxi23
3	MATI	ERIAL E MÉTODOS24
3.	.1 A	valiação da tolerância de alumínio
	3.1.1 alumín	Experimento 1. Seleção de cultivares de Girassol tolerante a altas concentrações de io
	3.1.2 alumín	Experimento 1.2. Seleção de cultivares de Girassol tolerante a baixas concentrações de io
	3.1.3	Experimento 2. Teste de toxicidade de alumínio em cultivar de Café
3.	.2 Se	eleção de Cultivares de Girassol a salinidade
	3.2.	Experimento 3. Substrato de crescimento com altas concentrações salinas
	3.2.2 salir	Experimento 4. Substrato de crescimento com redução de 50% das concentrações nas testadas no experimento 1
	3.2.3 salir	Experimento 5. Substrato de crescimento com redução de 50% das concentrações as nas testadas no experimento 2
	3.2.4 estal	Experimento 6. Avaliação de cultivares de girassol nas concentrações salinas prébelecidas anteriormente nos experimentos 1, 2 e 3 para crescimento de girassol 28

	3.2.5 estabele	Experimento 7. Avaliação de cultivares de girassol nas concentrações salinas pré- ecidas anteriormente nos experimentos 1,2 e 3 para crescimento de girassol – Novas
	cultiva	res
		Experimento 8. Avaliação de cultivares de girassol nas concentrações salinas pré- ecidas anteriormente nos experimentos 1,2 e 3 para crescimento de girassol — nição de duas concentrações salinas
3	3 Libe	eração OH <sup>-</sup> e H <sup>+</sup> na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio
-		substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio e de salinidade
en	n plântula	as
	nitrato e a	Experimento 9. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio em de girassol
	nitrato e a	Experimento 10. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio em de abacaxi
	nitrato e	Experimento 11. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade por de em plântulas de girassol
3.4	4 Efeit	to da Liberação OH <sup>-</sup> e H <sup>+</sup> na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato
e a	amônio ap 30	plicado no substrato de crescimento na associação entre o <i>Trichoderma</i> sp e a raiz
		Experimento 12. Crescimento do fungo Trichoderma em meio de cultura com diferentes 30
		Experimento 13. Efeito do fungo Trichoderma e fontes de nitrogênio no substrato de nto de plântulas de Maracujá
		Experimento 14. Efeito do fungo Trichoderma e fontes de nitrogênio no substrato de nto de plântulas de Maracujá – 30 dias de contato
3.: al		eração OH- e H+ na rizosfera, utilizando nitrato e amônio, aplicado via foliar, toxicidade de alumínio e de NaCl em plântulas32
		Experimento 15. Efeito da aplicação foliar de fontes de nitrogênio no pH da rizosfera de de café
	•	perimento 16. Efeito da aplicação foliar de fontes de nitrogênio através da embebição das solução de nitrogênio, no pH da rizosfera de plântulas de café
		Experimento 17. Aplicação foliar de nitrogênio visando a redução da toxidez por em plântulas de Café
		Experimento 18. Aplicação foliar de nitrogênio visando à redução da toxidez de alumínio de girassol

3.5.6	da toxidez por alumínio em mudas de Sombreiro
	da toxidez por alumínio em mudas de Amendoeira
3.6 M	etodologias utilizadas para avaliação dos experimentos
3.6.1 do solo	Local de realização dos experimentos, e metodologia de coleta, acidificação e salinização utilizado nos experimentos
3.6.2	Parâmetros Avaliados
3.6.3	Procedimento para verificar a presença de Al na rizosfera com uso de corantes 36
3.6.4 magnés	Metodologia utilizada para avaliação das concentrações de cálcio, fósforo, potássio io, sódio e alumínio
3.7 So	luções utilizadas37
3.7.1	Preparação de solução estoque de alumínio
3.7.2	Solução nutritivas simples
3.7.3	Solução nutritiva completa - Preparada com cargas equivalentes
3.8	Analise estatística38
4 RESUI	TADOS39
4.1.1 concent	Experimento 1.1. Seleção de cultivares de Girassol tolerante ao alumínio – Altarrações
4.1.2 concent	Experimento 1.2 Seleção de cultivares de Girassol tolerante ao alumínio - Baixas rações
4.1.3	Experimento 2. Teste de toxicidade de alumínio em cultivar de Café44
4.2	Seleção de Cultivares de Girassol à salinidade44
aplicado 1	beração OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio e de salinidade alas
nitrato e	e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio en as de girassol
4.3.3	Experimento 10. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio en
	s de abacaxi

e	amônio	Teito da Liberação OH <sup>-</sup> e H <sup>+</sup> na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de n o aplicado no substrato de crescimento na associação entre o <i>Trichodermaspp</i> e s	a
r			
	4.4.1 placa o	Experimento 12. Teste do crescimento do fungo <i>Trichoderma</i> em diferentes per de Petri	
		Experimento 13. Colocação simultânea do fungo <i>Trichoderma</i> e fontes de nitrogato de crescimento de plântulas de Maracujá – Cinco dias de contato	
		Experimento 14. Colocação simultânea do fungo <i>Trichoderma</i> e fontes de nitrogato de crescimento de plântulas de Maracujá – 30 dias de contato.	
	4.5.1 aspers	Experimento 15. Teste para verificar se aplicação via foliar (imitando irrigação) de fontes de nitrogênio altera o pH da rizosfera de plântulas de café	•
		Experimento 16. Teste para verificar se a aplicação via foliar de fontes de nitrogê las de café, aplicado através da embebição das folhas em solução de nitrogênio alteração	ra o pH
		Experimento 17. Aplicação foliar de nitrogênio via pulverização x Alumínio x plânt	
	4.5.4 x plânt	Experimento 18. Aplicação foliar de nitrogênio com nitrato via pulverização x Al tulas de girassol	
		Experimento 19. Aplicação foliar de nitrogênio via pulverização x Sal x plântulas de g	
		Experimento 20. Aplicação foliar via submersão das folhas em nitrogênio x Alur de Sombreiro	
	4.5.7 mudas	Experimento 21. Aplicação foliar via submersão das folhas em nitrogênio x Alui de Amendoeira.	
5	DISC	USSÃO	104
	5.1 alumín	Seleção de plantas de Girassol tolerantes ao alumínio - Tolerância de plantas de nio	
	5.2	Interação entre fontes de nitrogênio x alumínio em Girassol e Abacaxi	104
	5.3	Seleção de cultivares de girassol tolerantes a salinidade	105
	5.4	Interação entre fontes de nitrogênio x salinidade em girassol	106
	5.5	Interação entre fontes de Nitrogênio x Trichoderma x Salinidade	107
	5.6 aplicad	A liberação OH- e H+ na rizosfera, utilizando as fontes nitrogenadas nitrato e a do via foliar, pode alterar esta toxicidade de alumínio e de salinidade nas plântulas	
6	CONC	CLUSÕES	111
7	REFE	RÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112

# Lista de quadros e figuras

Quadro 1: Análise química do solo Argissolo Amarelo
Figura 1: Elongação radicular relativa (ERR%) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cv. 250 (————————————————————————————————————
Figura 2: Elongação radicular relativa (ERR%) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L) cv. Helio 251 (
Figura 3: Dados médios elongação radicular relativa (ERR%) de plantas de café ( <i>Coffed arabica</i> L) cultivar Catui Amarelo, crescidas por 20 dias em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio (AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O). <b>Experimento 2</b>
Figura 4: Media da condutividade dos experimentos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 avaliado em solo Argissolo amarelo 10 dias após aplicação de NaCl e calcário
Figura 5: Avaliação visual da porcentagem de infecção por fungo <i>Trichoderma spp</i> . em meio de cultura com diferentes níveis de pH, aos 10 dias após a inoculação de 1mL da solução de Trichobio em placa de petri. Medias seguidas da mesma letra não diferen entre si pelo teste Tukey 5%. <b>Experimento 12</b>
Figura 6: Placas de Petri após a infecção por fungo <i>Trichoderma</i> em meio de cultura com diferentes níveis de pH, aos 10 dias após a inoculação de 1mL da solução de Trichobio no meio de cultura. <b>Experimento 12.</b>
Figura 7: Valores de pH final da solução de crescimento (A) e a porcentagem de infecção em raízes (B) em plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> f <i>flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, que permaneceram por 5 dias em solução nutritiva completa com lmL de solução concentrada de fungo <i>Trichoderma spp</i> e foram submetidas durante este período, ao fornecimento de 0,5mM das fontes de nitrogênio nitrato de potássio, sulfato de amônia e nitrato de amônia. Medias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey 5%. <b>Experimento 13</b> 70
Figura 7: Imagens de raízes de plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis f flavicarpa Deg</i> ), crescidas por 25 dias em solução nutritiva completa com as fontes de nitrogênio sulfato de amônia (A), nitrato (B) e nitrato de amônia (C)
Figura 8: Comparação entre as médias resultantes da interação da concentração de nutrientes x fontes de nitrogênio x contração de Trichobio. Comparação entre as médias foi realizada pelo teste Tukey 5%. <b>Experimento 14</b>
Figura 9: Comparação dos dados da composição de cálcio, magnésio, fósforo e potássio (g.kg <sup>-1</sup> ) em parte aérea de plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> f <i>flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. As médias seguidas da mesma letra, não

diferem entre si pelo teste Tukey 5%. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso, ns- não significativo. <b>Experimento 14</b>
Figura 10: Valores do pH da solução nutritiva da comparação do tempo de avaliação, fonte de nitrogênio e concentração de nitrogênio em plantas de café ( <i>Coffea arabica</i> L) cv Catuai Amarelo, crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e após a aplicação foliar de fontes de nitrogênio. Medias seguidas da letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Setas indicam a aplicação foliar de nitrogênio. <b>Experimento 15</b> .
Figura 11: Fotos de folhas de plantas de café ( $Coffea~arabica~L$ ) var Catuai amarelo, 100hs após a aplicação foliar de nitrato(KNO <sub>3</sub> ) (A, B, C) e sulfato de amônia ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .SO <sub>4</sub> ) (D, E e F) em concentrações de 0 , 5 e 10%. <b>Experimento 15</b> 88
Figura 12: Sistema radicular de plantas de café ( <i>Coffea arabica</i> L.) var Catuai amarelo, 48hs serem fixadas em placa de petri com solução de Agar mais bromocressol purpura, e submetidas a aplicação foliar de nitrato (KNO <sub>3</sub> ) (A, B, C) e sulfato de amônia ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .SO <sub>4</sub> ) (D, E e F) em concentrações de 0 , 5 e 10% respectivamente. <b>Experimento 15</b> .
Figura 13: Fotos do estádio visual de folhas de plântulas de café arábica var Catuai Amarelo, 30 h após serem submersas nas fontes de nitrogênio nitrato (KNO <sub>3</sub> ) (A, C e F) e sulfato de amônia ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .SO <sub>4</sub> ) (B, D e F) em concentrações de 0, 5 e 10% respectivamente, para o fornecimento constante de nitrogênio. <b>Experimento 16.</b> 92
Figura 14: Elongação radicular relativa (ERR%) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L.) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em concentrações 0 e 10%. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura no vaso. <b>Experimento 18.</b>

# Lista de tabelas

Tabela 1: Comprimento radicular em cm, massa de raiz e parte aérea secas (mg planta <sup>-1</sup> ) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cultivares Helio crescidas com diferentes concentrações de alumínio. Avaliação realizada 10 dias após transferência para a solução nutritiva. <b>Experimento 1.</b>
Tabela 2: Comprimento radicular final, massa seca de raiz e massa seca de parte aérea por planta e análise estatística geral ( <b>Pr≥F</b> ) das variáveis avaliadas em plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cultivares Helio, crescidas por dez dias em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio (AlCl₃.6H₂O). <b>Experimento 1</b>
Tabela 3: Comprimento radicular (cm)de plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cultivares Helio crescidas com diferentes doses de alumínio. Avaliação realizada 10 dias após transferência para a solução nutritiva. <b>Experimento 1</b>
Tabela 4: Efeito isolado do comprimento radicular final por planta e análise estatística geral ( <b>Pr≥F</b> ) das variáveis avaliadas em plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L) cultivares Helio, crescidas por dez dias em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio (AlCl₃.6H₂O). <b>Experimento 1</b>
Tabela 5: Comprimento radicular (cm) de plantas de café ( <i>Coffea arabica</i> L) cultivar Catuai Amarelo, crescidas com diferentes doses de alumínio (AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O). Avaliação realizada 20 dias após transferência para a solução nutritiva completa. <b>Experimento</b> 2
Tabela 6: Germinação (%), do comprimento radicular (cm) e massa de raiz seca (mg planta¹) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cultivares Helio, crescidas com diferentes doses de salinidade. Avaliação realizada 10 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 7</b>
Tabela 7: Analise de variância ( <b>Pr≥F</b> ) dos dados médios do comprimento de parte aérea (cm), massa de parte aérea seca (mg planta <sup>-1</sup> ) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cultivares Helio, crescidas com diferentes doses de salinidade. Avaliação realizada 10 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 7</b>
Tabela 8: Germinação, do comprimento radicular e de parte aérea em cm, massa da raiz seca (mg planta <sup>-1</sup> ) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cultivares Helio, crescidas com diferentes concentrações de NaCl. Avaliação da germinação foi realizada aos 4 e 10 dias e o comprimento da raiz principal e massa seca da raiz foi realizada 25 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 8</b>
Tabela 9: Comprimento de parte aérea (cm), massa da parte aérea seca (mg planta <sup>-1</sup> ) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annus</i> L) cultivar Helio, crescidas com diferentes concentrações de NaCl. Avaliação realizada 10 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 8.</b>
Tabela 10: Comprimento da raiz principal e análise estatística geral ( <b>Pr≥F</b> ) das variáveis avaliadas em plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L.) cultivar Helio, crescidas por 25 dias

em solo salinizado com diferentes concentrações de NaCl. <b>Experimento 8</b>
Tabela 11: Germinação (%), massa da raiz e parte aérea seca (mg planta <sup>-1</sup> ) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L) cultivares Helio 360, crescidas com diferentes concentrações de alumínio e fontes de nitrogênio. Avaliação da germinação foi realizada aos 4 e 10 dias e da massa de raiz e parte aérea seca foram realizada 30 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 9.</b>
Tabela 12: Valores de pH da rizosfera e do solo de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L) cultivar Helio 360, crescidas com diferentes concentrações de alumínio e fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 9.</b>
Tabela 13: Efeito isolado das diferentes concentrações de alumínio e fontes de nitrogênio na germinação (%), massa da raiz e da parte aérea seca (mg.planta) e pH da rizosfera e do solo, em plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L.) cultivar Helio 360. <b>Experimento 9</b>
Tabela 14: Porcentagem de germinação (%), massa da raiz e parte aérea seca (mg planta <sup>-1</sup> ) de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L) cultivar Helio 360, crescidas com diferentes concentrações de NaCl e fontes de nitrogênio. Avaliação da germinação foi feita aos 4 e 10 dias e a massa de raiz e parte aérea seca aos 30 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 11.</b>
Tabela 15: Analise de variância ( <b>Pr≥F</b> ) dos dados médios de condutividade elétrica (C.E.) da rizosfera e do solo de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L) cultivar Helio 360, crescidas com diferentes níveis de salinidade. As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura em solo. <b>Experimento 11.</b> 65
Tabela 16: Efeito isolado de massa da raiz e da parte aérea seca (mg.planta) e condutividade elétrica (C.E em μS cm) da rizosfera de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L.) cultivar Helio 360, crescidas por 30 dias em solo com diferentes concentrações de NaCl. <b>Experimento 11.</b>
Tabela 17: Comprimento radicular médio (mm) e massa da raiz seca (mg) de plantas de abacaxi ( <i>Anannas comosus</i> Merrill) cv. Perola, crescidas com diferentes concentrações de alumínio. Avaliação realizada 20 dias após o transplante para a solução nutritiva. <b>Experimento10.</b>
Tabela 18: Interação das variáveis do comprimento radicular e da massa da raiz seca de mudas de abacaxi ( <i>Ananas comosus</i> Merrill) tipo filhote da cv. Perola, crescidas em solução nutritiva completa com fontes de nitrogênio e diferentes concentrações de alumínio. <b>Experimento 10.</b> 61
Tabela 19: Massa da raiz e da parte aérea seca (g kg <sup>-1</sup> ), pH da rizosfera e porcentagem de infecção (%) em plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> f <i>flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento

Experimento 14
Tabela 20: Efeito isolado de massa da raiz e da parte aérea seca (mg/planta) e concentração de Trichobio (ml/kg), avaliadas em plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> f <i>flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. <b>Experimento 14</b>
Tabela 21: Concentração de cálcio, magnésio, fósforo e potássio (g.kg <sup>-1</sup> ) em raízes de plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> f <i>flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. <b>Experimento</b> 14
Tabela 22: Efeito isolado da concentração de Trichobio, quando foi avaliado as concentrações de cálcio em raízes de plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis f flavicarpa</i> Degov FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento constante de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. <b>Experimento 14.</b>
Tabela 23: Concentração de cálcio, magnésio, fósforo e potássio (g.kg <sup>-1</sup> ) em parte aérea de plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> f <i>flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. <b>Experimento 14</b>
Tabela 24: Interação cálcio, magnésio com fonte de nitrogênio quando foi avaliado as concentrações de cálcio e fósforo em parte aérea de plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento constante de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. <b>Experimento 14.</b>
Tabela 25: Comparação do sistema radicular de plantas de plantas de maracujá ( <i>Passiflora edulis</i> f <i>flavicarpa</i> Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. <b>Experimento 14</b>
Tabela 26: Valores do pH da solução nutritiva de plantas de café ( <i>Coffea arabica</i> L) cv Catual Amarelo, crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e após a aplicação foliar de fontes de nitrogênio. <b>Experimento 15</b>
Tabela 27: Interação de fonte de nitrogênio x concentração de nitrogênio dos dados do pH da solução nutritiva com plantas de café ( <i>Coffea arabica</i> L) cv Catuai Amarelo, crescidas por 30hs em solução nutritiva completa. <b>Experimento 16</b> 91
Tabela 28: Efeito isolado da fonte de nitrogênio e concentração de nitrogênio no pH da solução nutritiva de plantas de café ( <i>Coffea arabica</i> L) cv Catuai Amarelo. <b>Experimento</b> 16

Tabela 30: Comprimento radicular (mm), diâmetro do ápice (mm) da raiz principal e pH da da solução nutritiva de crescimento de plantas de cafe ( <i>Coffea arábica</i> L) cv Catuai Amarelo, que receberam via foliar diferentes concentrações de fontes de nitrogênio, quando crescidas com diferentes concentrações de alumínio no substrato. Avaliação realizada por 168 h após o transplante para o vaso. <b>Experimento 17.</b> 94
Tabela 31: Efeito da interação significativa entre fonte de nitrogênio x concentração de alumínio no pH da solução nutritiva com plantas de cafe ( <i>Coffea arabica L</i> ) cv Catuai Amarelo. Avaliação realizada por 168 hs após o transplante para a vaso. <b>Experimento 17.</b>
Tabela 32: Efeito isolado da fonte de nitrogênio no comprimento radicular de plantas de café ( <i>Coffea arabica</i> L) cv Catuai Amarelo, crescidas em solução nutritiva. Avaliação realizada por 168 hs após o transplante para a vaso. <b>Experimento 17.</b> 95
Tabela 33: Comprimento radicular (cm), massa da raiz (mg planta) e parte aérea (mg planta) seca de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em diferentes concentrações. Avaliação realizada por 30 dias após a semeadura no vaso. <b>Experimento 18.</b>
Tabela 34: Valores de pH da rizosfera e do solo e comprimento de parte aérea de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L.) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em diferentes concentrações. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura no vaso. <b>Experimento 18</b> .
Tabela 35: Desdobramento da interação significativa entre cultivar e concentração de alumínio quando foram avaliados o comprimento radicular e a massa da raiz seca de plantas de girassol ( <i>Helianthus annuus</i> L.) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em diferentes concentrações. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura no vaso. <b>Experimento 18</b>
Tabela 36: Massa de raiz, do caule, da folha e das brotações secas (mg) e do comprimento (mm) e do número da brotações de plantas de sombreiro ( <i>Clitoria fairchildiana</i> Howard), crescidas por 15 dias em solo e as folhas mergulhadas em solução de nitrogênio e alumínio. <b>Experimento 20</b> .
Tabela 37: Valores do pH da solução nutritiva de plantas de amendoeira ( <i>Terminalia catapa</i> L.), crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e com as folhas mergulhadas em solução de fontes e concentrações de nitrogênio. <b>Experimento</b> 21
Tabela 38: Efeito isolado de fonte de nitrogênio e concentração de alumínio quando foi avaliado o pH da solução nutritiva de plantas de amendoeira ( <i>Terminalia catapa</i> L), crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e com as folhas mergulhadas em solução de fontes e concentrações de nitrogênio. <b>Experimento 21.</b>

#### **RESUMO**

SILVA. A. C. Efeito da fonte de nitrogênio na liberação de OH'/H<sup>+</sup> na rizosfera e a interação com toxidez de alumínio, estresse de salinidade e associação com *Trichoderma sp.*Seropédica. UFRuralRJ. 170p. (Tese, Doutorado em Fitotecnia).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar se variações do pH da rizosfera e do meio de crescimento, controladas pelo uso de fontes nitrogenadas, poderiam amenizar a toxidez de alumínio ou os efeitos provocados pela salinização. Na literatura científica é bem documentado que se uma planta esta absorvendo e assimilando nitrato como uma fonte nitrogenada, ela libera OH- para o substrato de crescimento. Se ela esta absorvendo e assimilando uma fonte amoniacal libera H<sup>+</sup>. Isto ocorre devido às células necessitarem equilibrar o seu balanço eletroquímico de carga, devido à assimilação diferenciada de cátions e anions. Apesar de ser uma regra geral, os trabalhos científicos usam a fonte nitrogenada diretamente no meio de crescimento, poucos utilizaram outros métodos de adicionar estas fontes, como por exemplo, a aplicação foliar de nitrogênio e suas implicações no balanço de carga. Neste trabalho foram estudadas diversas alternativas de aplicação de nitrogênio e as suas interações com a toxidez provocada por alumínio, excesso de sais e com o fungo Trichoderma. Foram estudas diversas plantas: Girassol (Helianthus annuus L), Maracujá (Passiflora edulis f. flavicarpa L.), Abacaxi (Ananas comosus Merril), Café (Coffea arabica L), Amendoeira (Terminalia catapa Linn) e Sombreiro (Clitoria fairchildiana Howard). Para realizar os estudos com plantas de Girassol foi realizada inicialmente uma seleção de plantas mais tolerantes a acidez e a salinidade. Os experimentos foram realizados em diversos substratos, solo, areia, solução nutritiva simples e completa. A interação entre fungo Trichoderma x fonte nitrogenada foi realizado para plantas de Girassol e Maracujá. Foram selecionadas como medianamente tolerantes ao alumínio a cultivar de Girassol Hélio 360, as demais cultivares a toxidez ocorreu em contração igual ou superiora 160µM de alumínio. Foi selecionada como tolerante a salinidade as cultivares Hélio 251>250>253, com concentrações acima 25mM de NaCl (1,90 dS.m¹) as plantas não cresceram. Após esta etapa foram implantados experimentos com as cultivares previamente selecionas como sensíveis ou tolerantes e estas foram utilizadas de acordo com a necessidade experimental. Os experimentos foram divididos nas seguintes etapas: Na primeira etapa, avaliou-se a liberação do OH-/H+ com aplicação das fontes nitrogenadas diretamente no meio de crescimento, sendo verificado que as fontes nitrogenadas não conseguiram minimizar os efeitos tóxicos do alumínio e da salinidade. Na segunda etapa, avaliou-se os efeitos liberação do OH-/H+ com aplicação das fontes nitrogenadas na associação do fungo Trichoderma. Este fungo cresceu em placas de petri somente em valores de pH acima de 5,0. A liberação de OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> não influenciou a associação do fungo com as raízes de plantas de Girassol e Maracujá. Na terceira etapa, foi avaliado se a aplicação foliar das fontes nitrogenadas poderia produzir os mesmos os efeitos nos efluxos de cargas na rizosfera. Foi verificado que as fontes nitrogenadas aplicadas via foliar aumentaram o pH da solução quando foi aplicado 10% de nitrato e reduziram o pH quando foi aplicado 5% e 10% de sulfato de amônia em plantas de Café e com 10% de nitrato em Girassol. A aplicação foliar de fontes nitrogenadas não alteraram a toxidez de alumínio e nem do efeito salino em plantas de Café e Girassol.

Palavras chave: fontes de nitrogênio, alumínio, salinidade, Trichoderma

#### **ABSTRACT**

SILVA, A. C. Effect of nitrogen supply in release of OH-/ H<sup>+</sup>in the rhizosphere and interaction with aluminum toxicity, salinity stress and association with *Trichoderma sp*. Seropédica. UFRuralRJ. 170p. (Thesis, Dr in Fitotecnia).

The present study was conducted to evaluate if changes in rhizosphere pH of the growth media, controlled by the use of nitrogen sources could alleviate aluminum toxicity or effects caused by salinization. It is well documented that if a plant is absorbing and assimilating nitrate as a nitrogen source, it releases 0H - for growth substrate. If she is absorbing, assimilating, ammonia source releases H<sup>+</sup>. This occurs because the cells need to balance its electrochemical charge balance due to differential uptake of cations and anions. Despite being a general rule, scientific research directly use the nitrogen source in the growth medium, few have used other methods to add these sources, such as foliar application of nitrogen and its implications on load balancing. In this work, several alternative management of nitrogen application and its interactions with the toxicity caused by aluminum, excess salts and Trichoderma were studied. Sunflower (Helianthus annuus L.), Passionflower (Passiflora edulis f flavicarpa L.), Pineapple (Ananas comosus Merril), Coffee (Coffea arabica L), Almond (Terminalia catapa Linn) and Sombrero (Clitoria fairchildiana Howard). To conduct studies with plants Sunflower was initially performed a selection of more tolerant to acidity and salinity plants. The experiments were conducted on various substrates, soil and sand, simple and complete nutrient solution. The interaction between Trichoderma x nitrogen source for plants was conducted with Passion fruit and Sunflower. Were selected as moderately tolerant to aluminum to grow Sunflower Helium 360, the other cultivars to toxicity occurred in contraction equal to or superior 160µM aluminum . Was selected as tolerant to salinity the Hélio 251 > 250 > 253, cultivars, with concentrations above 25 mM NaCl (1.90 dS.m<sup>1</sup>) plants were stop grown. After this step prior experiments cultivars tolerant or sensitive were used in accordance with the experimental needs. The experiments were divided into the following steps: In the first step, we evaluated the release of OH <sup>-</sup>/H <sup>+</sup> with application of nitrogen sources directly in the growth medium, and found that the nitrogen sources were unable to minimize the toxic effects of aluminum and salinity. In the second experiment, the effects of the release OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> with application of nitrogen sources in the association of the fungus Trichoderma sp. This fungus grown in petri dishes only at pH values above 5.0. The release of OH<sup>-</sup> / H<sup>+</sup> did not influence the association of the fungus with the roots of plants of sunflower and Passion fruit. In the third step, we assessed whether foliar application of nitrogen sources could produce the same effects on efflux of loads in the rhizosphere. It was found that the nitrogen sources applied foliar increased the pH of the solution was applied when 10 % of nitrate and reduced the pH when applied 5 % and 10 % ammonium sulfate in plants of Coffee and 10 % of nitrate in Sunflower . The foliar application of nitrogen sources did not alter the toxicity of aluminum and not the salt effect on plants and Sunflower Coffee.

Keywords: nitrogen source, aluminum, salinity and Trichoderma.

# 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos grandes produtores de alimentos e detém mais de 20% das terras agricultáveis do mundo, e a cada ano vem batendo recordes com suas safras agrícolas. Mas nestas áreas são encontrados solos ácidos e também solos alcalinos, que afetam de forma negativa o desempenho das plantas, provocando a redução de produtividade.

Os solos ácidos tem pH abaixo de 5, e nestas condições o alumínio é um dos elementos que fica livre na solução do solo, causando toxidez à maioria das plantas cultivadas. Esse processo ocorre diretamente nas raízes, que ao entrarem em contato com alumínio no solo, tem seu crescimento paralisado, aumenta seu diâmetro e como resultado do efeito tóxico, ocorre o impedimento da absorção de nutrientes e consequentemente afeta o desenvolvimento.

Os solos salinos representam parte da área agricultável no mundo e no Brasil. Nestes solos, o pH chega a níveis alcalinos com potencial osmótico elevado, e esta característica afeta o desenvolvimento das plantas cultivadas pois a maioria delas tem o desenvolvimento comprometido nestas condições, já que não conseguem retirar a água do solo.

Desta maneira, novas tecnologias devem ser agregadas às formas atuais de manejo dos cultivos agrícolas, para que possam minimizar as perdas de produção e reduzir o custo de produção nas lavouras. O estudo do balanço iônico em plantas pode ser uma delas, e deve estar associado a cultivares selecionadas como tolerantes e tambémassociado à utilização de micro-organismos benéficos, para com isso aumentar sua eficiência.

O balanço iônico que ocorre naturalmente nos tecidos das plantas para que este entre em equilíbrio de cargas, pode ser utilizado como ferramenta, para melhorar o desempenho das plantas em condições de estresse, já que o efluxo de OH-/H+na rizosfera provoca mudanças no pH e com essas mudanças, ocorrem aumento na absorção de nutrientes pela planta. Estudos mais recentes têm avaliado que esta metodologia elevou a resistência das plantas a infecções por patógenos e também melhorou o desempenho das mesmas com a associação a micro-organismos promotores de crescimento.

Desta forma, foram realizados 21 experimentos e dois ensaio com objetivo de avaliar a eficiência da utilização do balanço iônico como ferramenta. Portanto, inicialmente foram realizados testes de seleção de cultivares para tolerância ao alumínio e para salinidade. Após esta etapa foram implantados experimentos com as cultivares previamente selecionas como sensíveis ou tolerantes e estas foram utilizadas de acordo com a necessidade experimental. Os experimentos foram divididos nas seguintes etapas: a) avaliar a liberação do OH-/H+ com aplicação das fontes nitrogenadas diretamente no meio de crescimento, b) avaliar os efeitos liberação do OH-/H+ com aplicação das fontes nitrogenadas na associação do fungo Trichoderma e c) avaliar a aplicação foliar das fontes nitrogenadas para verificar se ocorreria o mesmo efeito no efluxo de cargas na rizosfera quando estas fontes são aplicadas no solo.

# 1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a utilização do balanço iônico como metodologia seria uma ferramenta que poderia minimizar os efeitos da toxidez por alumínio e salinidade em plantas, e a interação das fontes nitrogenadas como o fungo Trichoderma aumentaria o crescimento das plantas em condições de estresse salino.

# 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Balanço iônico em plantas

O balanço iônico acontece quando ocorre no tecido das plantas a difusão (efluxo e influxo) dos íons e nestas condições cátions e ânions orgânicos e inorgânicos lançam uma parte de sua carga para gerar um equilíbrio iônico na planta (KIRKBY & MENGEL, 1967). O equilíbrio iônico é dependente da nutrição por nitrogênio e como este é demandado em grandes quantidades pela planta e o único nutriente mineral absorvido tanto na forma de cátion (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) quanto de ânion (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) este elemento exerce um papel preponderante sobre a acidificação e a alcalinização da rizosfera, respectivamente (RODRIGUEZ et al., 2008). Assim a fonte de nitrogênio utilizada determina se a planta absorve mais cátions ou anions e também influencia na absorção de outros íons (ERGLE & EATON, 1949). A importância da fonte de nitrogênio ser o principal agente do balanço iônico, esta ligado as diferentes reações que ocorrem e os produtos que são excretados na rizosfera durante a absorção das fontes de nitrogênio, sendo observado que durante a assimilação do nitrato ocorre simultaneamente a absorção de H<sup>+</sup> e a liberação de OH<sup>-</sup>, na assimilação da amônia ocorre a liberação do H<sup>+</sup> (RAVEN et al, 1990; JACOB NETO, 1993).

A magnitude destas alterações bioquímicas pode ser estimada de forma geral utilizando as equações abaixo sugeridas por Raven (1988a) quando as plantas crescem com relação C:N de 15.

- Quando a NH<sup>+</sup><sub>4</sub> é a maior fonte de nitrogênio, a seguinte equação pode ser escrita:

$$3 \text{ NH}^{+}_{4} + + 45 \text{ CO}_{2} + 32 \text{ H}_{2}\text{O} \quad \text{C}_{45}\text{H}_{72}\text{N}_{3}\text{O}_{32}^{-} + 45 \text{ O}_{2} + 4\text{H}^{+}.$$

- Para plantas fixando nitrogênio atmosférico, como a principal fonte de nitrogênio:

$$1.5 N_2 + 45 CO_2 + 38 H_2O C_{45}H_{72}N_3O_{32}^- + 1.5 H_2 + 48 O_2 + 1 H^+,$$

- As plantas tendo N0<sup>-</sup>3 como a principal fonte de nitrogênio.

$$3 \text{ NO}^{-3} + 45 \text{ CO}_2 + 37 \text{ H}_20 \text{ C}_{45}\text{H}_{72}\text{N}_3\text{O}_{32}^{-} + 51 \text{ O}_2 + 2 \text{ OH}^{-}$$

A assimilação do íon NH<sup>+</sup><sub>4</sub> produz 1.33 mol por excesso H<sup>+</sup> por mol de nitrogênio assimilado, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> assimilação produz 0.66 mol de excesso de OH<sup>-</sup> por mol de N assimilado (Raven, 1976; & Raven 1988a). Resultados similares foram encontrado por Jacob-Neto (1993) utilizando diferentes técnicas de medição da liberação de OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> em plantas de feijão.

Sobre o termo rizosfera, no início do século passado o fitopatologista alemão Lorenz Hiltner definiu a rizosfera como um compartimento do solo influenciado pela atividade da raiz, considerando o solo rizosférico particularmente importante para a supressão de certas doenças de solo (NEUMANN & RÖHMELD, 2006). Mais recentemente uma definição de maior amplitude conceitua a rizosfera como uma zona de solo imediatamente ao redor das raízes que é diretamente afetada pelas mesmas (DARRAH, 1993). Essa interface entre a planta e o solo é constituída de intensa depleção de água e nutrientes, presença de diversos compostos de carbono derivados das raízes, alta biomassa e atividade biológica (DARRAH, 1993), além de grandes variações de pH promovidas pela planta (ALLEN et al., 1988).

O balanço iônico vegetal está fundamentado na necessidade da compensação das cargas elétricas e da regulação do pH celular da planta, cujas variações estão relacionadas ao influxo de íons de diferentes cargas. O controle do pH citoplasmático, para que seja mantido

em valores próximos a 7,3, é realizado por um sistema denominado "pH-stat". Este sistema conta com a manutenção do pool de ácidos orgânicos que são carboxilados ou descarboxilados no interior da célula e está associado às trocas de prótons com o meio externo, com decisiva participação das H<sup>+</sup>-ATPases (HINSINGER et al., 2003). Assim sendo, a geração da acidificação ou alcalinização da rizosfera é diretamente influenciada pelo processo de absorção de íons pelas raízes e ocorrem mediante absorção desigual de nutrientes catiônicos (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>) em relação aos aniônicos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>), quando expressos em equivalências de cargas (HAYNES, 1990). Isto ocorre porque o influxo de íons de diferentes cargas nas células da raiz promove a necessidade do efluxo de H<sup>+</sup> ou OH<sup>-</sup> na rizosfera para que seja compensado o desbalanço cátion–ânion ocorrido na planta (HINSINGER et al., 2003), promovendo acidificação ou alcalinização desta região, respectivamente (RAVEN et al., 1990; CARVALHO et al., 2005). Se no processo metabólico da célula da planta for computado o efeito de carga do S e do P, no processo assimilatório, a planta libera na rizosfera 1,22 mol de H<sup>+</sup> por mol de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 0,22 mol de H<sup>+</sup> por mol NH<sub>3</sub><sup>+</sup> ou uréia e 0,78 mol de OH<sup>-</sup> por mol de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (RAVEN, 1988; ALLEN et al., 1988).

Portanto, para não comprometer o pH citoplasmático, o excesso de produto gerado é liberado na solução do solo com consequente aumento ou diminuição do pH rizosferico (RAVEN & SMITH, 1976). Nos estudos realizados por KIRKBY & MENGEL (1967) com plantas de tomate, foi analisado que as fontes de nitrogênio utilizadas mudaram o pH da solução nutritiva, sendo observado aumento do pH com uso de nitrato e redução com uso de amônia. Também foi observado por estes autores que a fonte nitrato promove melhor desenvolvimento e maior concentração de cátions e as nutridas com amônia maiores concentração de ânions. A mudança do pH gerado na superfície da raiz com a absorção de nitrogênio, afeta a solubilidade, disponibilidade e a absorção de cátions e ânions pela planta. Nos longos períodos de efluxo de H<sup>+</sup> quando a rizosfera apresenta acidez elevada ocorre redução no acúmulo de massa seca pela planta. (JARVIS et al, 1983). Em plantas de mamona o uso de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em concentrações acima de 8mM causou sintomas de fitotoxidez, com redução da massa seca na parte aérea e raiz das plantas e com uso de nitrato em concentrações de 12mM estes sintomas não foram observados (ALLEN & SMITH, 1986). O efluxo de H<sup>+</sup> na rizosfera quando condicionado pela fonte de nitrogênio, pode influenciar no processo de associação das plantas com bactérias benéficas (RAVEN et al., 1990). Em relação à atividade microbiológica da rizosfera, MANTELIN & TOURAINE (2004) destacam que a influência da microflora rizosférica é tão importante que assume um papel crucial no entendimento de questões relacionadas ao aspecto nutricional e ao desenvolvimento da planta.

Estudos que buscam avaliar a magnitude das interações entre plantas e microorganismos consideram que na rizosfera está a chave para o entendimento de como a planta
age no sentido de tanto repelir organismos nocivos quanto atrair os benéficos, destacando
neste último grupo, os fungos micorrízicos (BOUWMEESTER et al., 2007), bactérias
fixadoras de nitrogênio (ANGELINI et al., 2002) e bactérias promotoras de crescimento
(MANTELIN & TOURAINE, 2004). Nos estudos da interação de fungo e fonte de nitrogênio
realizados por CARVALHO et al. (2005), avaliaram o desenvolvimento de plantas de tomate
crescidas em meio com Fusarium e supridas com diferentes fontes de nitrogênio, nitrato,
amônia e nitrato de amônia, verificou que as plantas supridas com nitrato, tiveram menor
número de conídios presentes em suas raízes, o que segundo este autor ocorreu por
consequência do melhor desenvolvimento do sistema radicular destas plantas, causado pela
fonte de nitrato e não somente por causa da mudança de pH da rizosfera. LEMOS (2010),
avaliando o efeito da infecção por fungo Fusarium e suprindo plantas de feijão com nitrato,

amônia e nitrato de amônia, verificou que no tratamento com nitrato ocorreu a redução do processo de infecção quando comparado com as demais fontes estudadas e melhorou o crescimento da cultivar de feijão tolerante ao Fusarium. Com relação a micro-organismos benéficos, MACEDO (2010) verificou que as fontes de nitrogênio afetam a associação das bactérias fixadoras de nitrogênio e plantas de feijão, sendo observado pelo autor que a fonte de nitrogênio como NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, acidificou a rizosfera e reduziu a nodulação, e a fonte nitrato aumentou o pH rizosférico mas não aumentou a nodulação das plantas.

O efeito da extrusão de OH<sup>-</sup> ou H<sup>+</sup> na rizosfera, afetando o seu pH, pode ainda alterar a absorção de outros elementos químicos pela planta como P, Mo e Al, como estudados por JACOB-NETO (1993), bem como alterar o comportamento de microrganismos na interface solo-planta. Entretanto, este autor apesar de constatar o aumento do pH da rizosfera de plantas supridas com nitrato, não verificou a diminuição da toxidez por alumínio em plantas de feijão.

#### 2.1.1 O papel do nitrogênio

O nitrogênio por ser o elemento absorvido e assimilado em maiores porcentagens como carga elétrica, desempenha papel preponderante no equilíbrio eletroquímico das plantas. O uso de diferentes fontes pode alterar o pH da rizosfera, que por sua vez pode alterar a propriedade desta região da raiz. A modificação controlada do pH da rizosfera pelas fonte de nitrogênio que contenha NO3<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, H<sup>+</sup> e N<sub>2</sub>, H<sup>+</sup> pode auxiliar o homem a entender os mecanismos de toxidez por Al (JACON NETO, 1993) e a aproximação das raízes de micro-organismos patogênicos (CARVALHO, 2003; CARVALHO et al, 2005; LEMOS, 2010; MACEDO, 2010)

#### 2.2 Efeito fisiológico da toxidez causada pelo alumínio

O sistema radicular é o local onde são observados os efeitos diretos da toxidez por alumínio, uma vez que são as raízes que penetram no solo para fornecer fixação e absorver nutrientes para a planta (ZONTA, 2006). O sintoma primário da toxidez é a redução da elongação da raiz principal (KOCHIAN, 1995) e o aumento do diâmetro do ápice radicular (SILVA, 2009). Estes efeitos ocorrem após poucas horas de contato das plantas com o alumínio (BARCELÓ & POSCHENREIDER, 2002)

O crescimento da raiz ocorre de duas formas, inicialmente com a divisão celular no meristema e depois com o alongamento das células do meristema. Este efeito está relacionado à liberação de auxina nas células do meristema (BENJAMINS, 2005) Nessa fase o Al presente na solução do solo pode atuar alterando ou mesmo interrompendo o crescimento radicular. O alumínio por ser tóxico para as plantas, em seu primeiro contato com a raiz de plantas sensíveis, reduziu a elongação radicular provocando rapidamente a paralização das zonas de crescimento e rapidamente o surgimento da calose no ápice da raiz principal das plantas de feijão (RANGEL et al., 2007; JACOB NETO, 1993).

Nas plantas tolerantes ocorre a acumulação do alumínio na parede da raiz, já que quando ocorre o contato do ápice da raiz com o alumínio, ocorre a ativação da exudação de citrato no apoplasto e com isso não ocorre a diminuição do crescimento radicular (RANGEL al et., 2009). O ápice da raiz é a principal região afetada pelo alumínio, mas é na zona de transição (localizada após o ápice), que ao iniciar o contato da raiz com alumínio, ocorre a

expressão genética para a ativação dos fitohormônios para a percepção da toxicidade do alumínio (RYAN et al., 1993). O processo de toxidez inicia-se após 30 min de contato das raízes com o alumínio (MASSOT et al, 2002; KOLLMEIER et al, 2000; BARCELLO & PONSCHERAIDER, 2002). Neste mesmo período os níveis de etileno no ápice radicular também se elevam (SUNet al, 2010). Na paralisação do crescimento do sistema radicular, o etileno é um dos hormônios envolvidos, e sua produção aumenta quando ocorre algum estresse biótico e ou abiótico nas raízes, já que seu precursor o gene ACC e ACO geralmente são encontrados em plantas sensíveis ao alumínio (RUZICKA et al, 2012).

Nos estudos de YANG (2012), realizados com feijão em solo acidificado com alumínio (AlCl<sub>3</sub>), este efeito da redução do crescimento foi observado, pois com o aumento da concentração de alumínio no solo ocorreu redução da elongação relativa da raiz e aumento da calose no ápice radicular nas maiores concentrações de alumínio. Assim este autor considera a avaliação do aumento da calose como indicador de sensibilidade ao alumínio, pois quando nesse estudo foi associado o estresse de alumínio com estresse à seca, somente nas plântulas tratadas com alumínio ocorreu o aumento da calose. Além da atividade do surgimento da calose, pode ser observado a atividade de fitohormônios no processo de crescimento radicular em presença de alumínio. Nestes estudos de YANG (2012), nas plantas estressadas por alumínio, foi realizado um estudo da expressão gênica: após 24hs de contato das plântulas com o alumínio ocorreu diminuição da expressão do gene NCED que é precursor do ABA (hormônio que pode auxiliar no crescimento da raiz em deficiência hídrica); Foi observado que ocorreu redução dos níveis de ABA no ápice radicular e outros hormônios que não foram identificados. Também foi observado aumento da expressão do gene MATE nas maiores concentrações de alumínio. Este gene está associado ao aumento de exsudação de citrato pelas raízes de plantas tolerante ao alumínio e ao aumento da expressão do ACC e ACO nas plantas tratadas com alumínio. Os fitohormônios regulam o desenvolvimento da planta, e o crescimento radicular é modulado pela auxina e o etileno, sendo que o etileno pode atuar inibindo a elongação do meristema radicular (SWARUPet al., 2005).

O crescimento do sistema radicular e a elongação radicular relativa das plantas sofrem redução à medida que são submetidas a crescentes concentrações de alumínio (FOY, 1978) e este efeito ocorre, pois nestas plantas ao primeiro contato com o alumínio em solução, ocorre aumento da síntese de gene ACC e ACO no ápice da raiz (SUN et al, 2010) e a partir destes geram a síntese de etileno e com isso ocorre a paralisação do crescimento da raiz (RUZICKA et al, 2012). Mas estes efeitos de aumento da concentração de ACC são observados somente em plantas sensíveis; nas plantas tolerantes foi observado por YANG(2012) o aumento da expressão do gene MATE, precursor de citrato. E como já é sabido a esxudação de citrato é um dos mecanismos de tolerância ao alumínio.

Já a auxina é transportada para o sistema radicular e o efluxo e influxo deste fitohormônio modula o crescimento e desenvolvimento das raízes. Desta forma quando a raiz entra em contato com o alumínio, ocorre a redução dos níveis de auxina na zona de transição do meristema da raiz, causada por expressão de genes ativados pela presença de alumínio que geram o efluxo da auxina, e consequentemente ocorre o inicio da paralisação do crescimento (SHENet al., 2008). Em seguida inicia-se rapidamente o aumento das concentrações de etileno que é ativada pela expressão de genes como o ACC, EBS e GUS, que também foram ativados em presença de alumínio (SUN et al., 2010).

O aumento do diâmetro do ápice radicular é um efeito morfológico que pode ser observado, pois quando ocorre a redução do transporte basipeto de auxina, ocorre um

acúmulo de auxina no meristema apical e na zona de transição de crescimento e este por consequência gera o crescimento exagerado das células do ápice da raiz (KOLLMEIER et al., 2000)

No estudo de SUN (2010), avaliando os níveis de etileno em plantas expostas ao alumínio, observou que os níveis de etileno aumentaram rapidamente nos primeiros 30 minutos quando as plantas entraram em contato com o alumínio e nas primeiras 12 após este período, decresceram. Neste estudo os autores usaram mutantes insensíveis ao etileno e estes quando expostos ao alumínio tiveram menor redução do crescimento radicular que as plantas sensíveis ao etileno, indicando a ligação da alumínio e etileno na redução do comprimento da raiz. O mesmo efeito foi observado neste estudo quando foi medido os níveis de auxina em mutantes insensíveis a auxina. Nessas plantas, quando não ocorreu a dissipação da auxina nas células do ápice radicular houve menor redução do crescimento das raízes.

Em plantas de milho em contato com alumínio em níveis tóxicos, quando foi avaliado os níveis do ácido indol acético, verificou-se a redução no transporte basipeto deste hormônio para as raízes e os níveis de IAA foram mais baixos na zona de elongação principalmente em plantas sensíveis (KOLLMEIER et al., 2000)

Em relação à citocinina, fitohormônio que tem sua biogênese nas raízes e atua no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular, no estudo realizado por MASSOT et al.(2002), não ocorreu redução nos níveis desse fitohormônio nas raízes das plantas de feijão quando foram expostas ao alumínio. Ainda neste estudo foi observado que os níveis de citocinina apresentaram uma recuperação rápida após o contato com o alumínio. Esta recuperação nos promotores de citocinina ocorreu após 5 minutos de contato da raiz com alumínio e o aumento da concentração de etileno nas raízes dessas plantas teve maior nível após 30 minutos. Segundo estudos realizados por VOGELet at.,(1998), as citocininas podem atuar na biogênese do etileno já que produz uma isoforma do gene ACC síntase que é promotor da síntese de etileno.

Ao entrar na parede celular, primeiro contato com a raiz o alumínio se liga fortemente à parede celular, fixando-se nas células epidérmicas e corticais, a partir desse contato podem ser iniciados processos de exsudação de complexantes, de regulação do pH celular e podendo também ocorrer a ativação de fitohormônios como o acido indol acético (DELHAIZE et al., 1993; DEGENHARDT et al., 1998; HORST, 1995; KOLLMEIER,2000), redução do fluxo de cálcio na células, alterações no citoesqueleto e células do parênquima (MASSOT et al., 1991)

A zona distal de transição é a mais afetada pelo alumínio, sendo mais sensível a toxidade, este efeito foi observado em plantas sensíveis e nas plantas tolerantes, esta zona de crescimento foi mesmo afetada por liberar ácidos orgânicos na rizosfera e também por alterar o pH desta região. A zona meristemática é pouco sensível ao alumínio e isto pode ocorrer por causa da proteção de mucilagem que envolve o meristema radicular fazendo com que o alumínio fique preso a esta camada. A zona de elongação é a menos afetadas pela toxidez de alumínio, mais a justificativa para este efeito é pouco conhecida (KOLLMEIER et al., 2000; ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006)

Após o contato do alumínio com as células das raízes, inicia-se as alterações celulares e os maiores danos são observados na zona distal de crescimento. Estes efeitos aumentam de intensidade a medida que aumenta o tempo de contato do meristema radicular com o alumínio (SIVAGURU et al., 1999), ao ligar-se na parede da célula, afeta sua extensibilidade, e se liga no apoplasto e chega ao citosol (KOCHIAN, 1995).

A ligação do alumínio ao apoplasto se da na matriz de pectina e ocorre com seus grupos carboxílicos negativamente carregados e estes tem afinidade pelo alumínio (HORSTet al., 2010). O alumínio também pode entrar na célula via simplasto e em plantas acumuladoras de alumínio quando isso ocorre este elemento é transferido para o cilindro central e é transportado pelo xilema ate os brotos das folhas e armazenado dentro do vacúolo (MAet al, 1997).

A membrana plasmática em contato com o alumínio pode sofrer modificações, já que o contato do alumínio com os lipídios e proteínas afetam a sua permeabilidade, fluidez, podendo sofrer despolarização. Estas mudanças causadas pelo Al podem afetar o transporte de íons (KHAN et al., 2009).

Nas plântulas de milho expostas ao alumínio, os efeitos percebidos a curto prazo (1h de contato) são modificações nos microtubulos das células da zona distal de crescimento, a médio prazo (6h de contato) ocorrem lesões no citoesqueleto dos microtubulos das células da zona distal de crescimento. Neste período iniciam-se divisões nas células mais externas do meristema, sendo este efeito resultado do acúmulo de auxina gerado pela redução do transporte basipeto deste fitohormônio como resposta à toxidez por alumínio (KOLLMEIERet al,2001; SUN et al., 2010). A longo prazo (12h de contato) ocorreram lesões mais drásticas nos microtubulos, afetando o arranjamento da zona distal de crescimento e aumentando os espaços intercelulares nas células externas e internas do córtex, despolarização da membrana plasmática e formação de calose nas células do ápice da raiz (SIVAGURU et al, 1999).

A germinação das sementes pode ser influenciada pelo pH do meio. O alumínio atua inibindo os processos e os mecanismos de divisão celular, afetando a síntese proteica, permeabilidade da membrana e a divisão celular (FOY et al., 1978). ALAMGIR & AKHTER (2009), avaliando a germinação em placas de Petri com papel filtro de cultivares de trigo em diferentes concentrações de alumínio, sem definir a fonte utilizada, verificaram que concentrações até 500ppm reduziram a germinação das cultivares de trigo. Também avaliando a tolerância ao alumínio em placas de Petri com papel filtro de outras cultivares de trigo e utilizando como fonte de alumínio KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.12H<sub>2</sub>O, LIMA & COPELAND (1990) observaram redução da germinação com concentrações de alumínio acima de 1mM. Já em cevada, quando a germinação ocorreu em papel filtro embebido de alumínio utilizando alumínio na fonte AlCl<sub>3</sub>, as concentrações a partir de 2mM também diminuíram a germinação (TAMAS et al, 2006).

No entanto, em espécies arbóreas o alumínio não reduziu o processo germinativo e aumentou a velocidade de germinação, como foi verificado nos estudos realizado por PEREZ & PRADO (1993) trabalhando com *Copaifera langsdorffii*. Estes autores constataram que o pH abaixo de 4,0 em associação com o alumínio (Al(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>), aumentou a quebra da dormência das sementes desta planta. Ainda em estudos com espécies florestais como pinus, NOSKO et al. (1988) verificaram em placas de Petri com papel filtro que concentrações de alumínio (KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.18H<sub>2</sub>O) até 500μM não impediram a emissão da raiz primária, porém causaram necrose nas raízes recém emitidas.

No estudo da germinação de cultivares de soja, em rolos de papel filtro, foi constatado que a emissão da raiz primária foi impedida quando em presença de alumínio (AlCl<sub>3</sub>), ate a concentração de 1,5 mmol.dm<sup>-3</sup>, diminuiu somente o crescimento do hipocótilo (CUSTÓDIO et al., 2002). O mesmo efeito foi avaliado por MACEDO & LOPES (2008) estudando a germinação em papel germitest de cultivares de café em presença de alumínio tendo como

fonte o Al(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.16H<sub>2</sub>O. Os autores verificaram que a concentração de 45mg.L<sup>-1</sup> não impediu a emissão da raiz primaria das cultivares de café.

Quando ocorre ação simultânea de outros fatores com alumínio, como o estresse hídrico do meio, o efeito da toxidez do alumínio pode ser mais pronunciado na germinação. E estes efeitos foram observados nos estudos realizados por MARIN et al. (2004) com sementes de guandu associando estresse hídrico ate -1,5 MPa e concentrações de alumínio (Al(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.18H<sub>2</sub>O) ate 10mmol.m<sup>3</sup>. Os autores verificaram que a germinação diminuiu com o aumento do estresse hídrico. SILVA (2009) avaliando a germinação de cultivares de mamão e maracujá, observou que o aumento das concentrações de alumínio reduziu a porcentagem da germinação e aumentou o diâmetro do ápice da raiz principal, mas neste estudo as concentrações de alumínio utilizadas não tinham o potencial osmótico suficiente para inibir a entrada de água nas sementes, mostrando assim o efeito do alumínio na inibição da divisão celular.

Na parte aérea das plantas, os efeitos da fitotoxidez do alumínio são considerados secundários e os sintomas observados geralmente são por retenção radicular de elementos na parede da raiz, que podem estar lignificadas após sofrerem a ação tóxica do alumínio. Algumas plantas são consideradas acumuladoras de alumínio e nestas o alumínio é absorvido no sistema radicular e transportado para o vacúolo das folhas (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006). No estudo realizado por PEREIRA et al., (2003) quando avaliou o comportamento de plantas de citrus, foi observado que em presença de alumínio ocorreu redução da condutância estomática nas plantas de Limão cravo e Volkmer. Mas nas plantas de tangerina Cleópatra, à medida que aumentou as concentrações de alumínio aumentou a condutância estomática. Neste estudo ainda foi observado que a concentração interna de CO<sub>2</sub> aumentou e a eficiência do uso de água reduziu com, o aumento das concentrações de alumínio.

Em plantas de goiabeira concentrações acima de 15mg L de alumínio em solução nutritiva promoveram diminuição da altura, da emissão de folhas e nas folhas presentes foram observados bordos com ondulações, que são sintomas de deficiência de fósforo (SALVADOR, 2000). No mesmo estudo foram também observados coloração avermelhada nos pecíolos das folhas e também a massa seca das folhas diminuiu com o aumento das concentrações de alumínio. Mas segundo este mesmo autor, conhecer os efeitos fisiológicos plenos da toxidez por alumínio ainda é complicado por falta de um radioisótopo adequado. Em plantas de rúcula foram observados os mesmos efeitos que em plantas de goiabeira diferindo somente as concentrações de alumínio que causaram a toxidez, pois com rúcula os efeitos ocorreram com menos de 15mg de Al.

Somente em plantas classificadas como tolerantes ao alumínio, as concentrações baixas não causam efeitos tóxicos na parte aérea e nestas condições as plantas tolerantes podem ativar algum mecanismo que podem inibir a toxidez, como por exemplo a exsudação de acido orgânico ou a adsorção do alumínio nas paredes celulares. Mesmo em altas concentrações e dependendo do substrato que for realizado o ensaio, as plantas tolerantes terão o mesmo comportamento e apresentaram os mesmos sintomas (BARCELLO & POSCHEREIDER, 2002). Plantas de maracujá crescidas em solução nutritiva também apresentaram menor número de folhas nas maiores concentrações de alumínio, mas em baixas concentrações estes sintomas não foram percebidos (SILVA, 2009).

O Al é absorvido, predominantemente na forma do íon trivalente (AI<sup>3+</sup>) (ou mais corretamente Al(OH)6<sup>3+</sup>) (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006). A maior parte que penetra nas raízes fica retida nas paredes celulares (cerca de 99% do total) pelas cargas negativas de

grupos carboxílicos livres de pectinas (ZHANG &TAYLOR et al., 1998) ou pode se precipitada na forma de fosfato de Al. No citoplasma, em função do pH prevalecente (7,0-7,5) assume a forma de íon aluminato (Al(OH)<sub>4</sub>) ou precipita com fosfato ou é complexado por ligantes orgânicos como ATP, ácidos orgânicos, compostos fenólicos etc, ou, então, é complexado com ácidos orgânicos dentro de vacúolos (ZHENG et al., 2005)

Estudos realizados em solução nutritiva com plântulas de rúcula, mostraram que a medida que aumentou a concentração de alumínio ocorreu diminuição do crescimento radicular (SANTOS 2010), e o mesmos efeitos ocorreram nas plântulas de arroz (VASCONCELOS et al., 2002), mamão e maracujá (SILVA 2009; MENDONÇA 1999) e café (BRACCINI et al., 1998).

A absorção de nutrientes pelas plantas, tais como P, Ca eMg também é prejudicada quando as concentrações de alumínio estão em níveis que causam a toxidez as raízes e essa redução pode estar relacionada com a interferência do excesso do alumínio nas reações enzimáticas e na disposição de polissacarídeos nas paredes celulares, (FOY, 1978).

Em relação ao fósforo o alumínio pode competir com a transportador do fosfato e inibir a captação deste elemento pelas raízes (FAÇANHA & OKOROKOVA-FAÇANHA, 2002). Para cálcio e magnésio algumas concentrações podem modificar o potencial elétrico da membrana plasmática e com isso diminuir a toxidez de alumínio, mas neste estudo o maior crescimento foi observado nas raízes laterais (SILVA, 2005), indicando que o processo de toxidez foi iniciado. Nos estudos realizados por LIAO et al., (2006) quando comparou os efeitos da interação de fósforo com alumínio, identificaram que o aumento das concentrações de fósforo inibiu a toxidez por alumínio, aumentando a elongação radicular das plantas. Nos estudos realizados por ZHENG et al., (2005) a utilização de diferentes concentrações de fósforo aumentaram o efluxo de ácido oxálico nas plantas. Este efeito da interação dos nutrientes com alumínio promovendo a ativação dos mecanismos de tolerância como a exsudação de ácidos organicos é um fator muito importante para o incremento da produção agrícola em regiões com solos ácidos e com níveis de alumínio elevados.

A deficiência de boro foi avaliada em alguns estudos como indicativo da sensibilidade das plantas ao alumínio, uma vez que plantas melhor supridas com este micronutriente apresentaram menor inibição da elongação da raiz, em função de que a deficiência de boro aumenta a indução para a formação das pectinas nas plantas (CORRALES et al., 2008; YU et al., 2009).

O comprimento da raiz principal bem como a taxa de crescimento relativo, tem sido usados como indicadores de fitotoxicidade de Al em plantas (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006; SILVA, 2009; VASCONCELOS et al, 2002). Para alguns autores se uma plântula é tolerante ao alumínio, é bem provável que esta continue tolerante ao longo de sua vida adulta. Desta forma o comprimento da raiz principal tem sido utilizado para selecionar plantas tolerantes ao alumínio. Da mesma forma o uso de corantes também tem sido usados para selecionar plantas tolerantes ao Al (POLLE et al., 1988; JACOB NETO, 1993).

A diminuição da fitotoxidez de Al em plantas está ligado ao pH do solo ou ao meio de crescimento (ROSSIELLO & JACOB NETO, 2006). JACOB NETO, (1993) relatou que mesmo as plântulas supridas com NO<sub>3</sub>-, portanto liberando OH-, sofreram efeito fitotóxico do íon alumínio. Outros autores entretanto sugeriram que plantas crescidas com NO<sub>3</sub>-, devido a liberação de OH- na rizosfera poderiam diminuir a toxidez de alumínio, devido a alteração da especiação do elemento na rizosfera.

## 2.3 Estresse salino em plantas

Atualmente mais de 800 milhões de hectares encontram-se comprometidos por altos níveis de sais, o que corresponde 20% do total das terras agrícolas e representando mais de 6% da área terrestre (ZHANG et al., 2010). No Brasil, estima-se que existam aproximadamente nove milhões de hectares com problemas de salinização, sendo a maior parte destas áreas situadas na região Nordeste, principalmente nos perímetros irrigados (CARNEIRO et al., 2002).

A salinidade é um dos estresses abióticos que mais prejudicam a produção agrícola, sendo mais comum em regiões áridas e semiáridas com baixa pluviosidade e alta demanda evaporaçao, condições que contribuem fortemente para aumentar a salinização do solo. Nessas regiões, este fator é acentuado através da utilização de água de baixa qualidade associada a técnicas inadequadas de manejo do solo (FERREIRA-SILVA et al., 2009). Estima-se que aproximadamente 20% das terras cultiváveis no mundo estejam afetadas pela salinidade, o que resulta numa perda de 50% da produtividade agrícola de uma ampla variedade de culturas de importância econômica (MUNNSet al 2008), como o milho (*Zea mays* L.), a cevada (*Hordeum vulgare* L.), o arroz (*Oriza sativa* L.), as quais estão frequentemente sujeitas ao estresse salino (SAIRAM et al, 2004). A produtividade das culturas é afetada devido ao efeito osmótico e tóxico provocados pelos íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>, acarretando modificações morfológicas e mudanças nos processos fisiológicos e bioquímicos. As alterações advindas do excesso desses íons variam em função do genótipo, estádio de desenvolvimento da planta, intensidade e duração do estresse (WILLADINO et al, 2010).

O estresse por salinidade é caracterizado por promover duas características bastante típicas como: baixos potenciais osmóticos e altas concentrações de cátions, como o Na<sup>+</sup>; Ca<sub>2</sub><sup>+</sup>; Mg<sub>2</sub><sup>+</sup> e K<sup>+</sup> e ânions, como Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2</sup><sup>-</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (TOPPA et al, 2011). A maior parte do solo afetado pela salinidade originou-se do acúmulo de sais durante longos períodos de tempo em zonas áridas e semiáridas (SZABOLCS, 1989). A erosão de rochas é outra fonte de acúmulo de sais, pois liberam sais solúveis de vários tipos, principalmente cloretos de sódio, cálcio, magnésio e, em menor concentração, sulfatos e carbonatos, sendo o cloreto de sódio o sal mais solúvel e liberado em maior concentração. Outra causa do acúmulo salino é a deposição de sais oceânicos transportados pelo vento e pela chuva. A água da chuva contém entre 6-50 mg kg<sup>-1</sup> de cloreto de sódio, essa concentração diminui de acordo com a distância da costa, sendo que uma chuva contendo 10 mg kg<sup>-1</sup> de cloreto de sódio, deposita 10 kg ha<sup>-1</sup> de sal para cada 100 mm de precipitação por ano (MUNNS &TESTER, 2008).

As plantas são divididas em dois grandes grupos amplos e distintos, quanto à tolerância à salinidade: halófitas - tolerantes à salinidade; e glicófitas – mais sensíveis ao sal, apresentando diferentes níveis de tolerância ao estresse salino (KADER&LINDBERG, 2010).

As halófitas constituem apenas 1% da flora mundial (FLOWERS & COLMER, 2008), estão distribuídas em habitats costeiros e interiores salinos, enfrentam diretamente os efeitos secundários do estresse salino em todas as fases de seu ciclo de vida (KHAN et al, 2002; KHAN et al, 2006). A *Atriplex vesicaria*, é uma planta indicadora de salinidade, habita pântanos, e pode crescer e completar seu ciclo de vida em susbtrato com concentrações de até 700 mM de NaCl. Estas plantas conseguem viver nessas condições devido à capacidade de compartimentalização dos íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> no vacúolo das células acompanhada do acúmulo de solutos orgânicos compatíveis no citoplasma, os quais mantêm o equilíbrio osmótico entre

os compartimentos celulares (HASEGAWA et al., 2000; TAIZ & ZEIGER, 2009). Além desses mecanismos, podem eliminar íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> através de estruturas morfológicas especializadas, presentes na superfície das folhas, como glândulas secretoras e pêlos vesiculares. Os íons são transportados para essas glândulas onde o sal cristaliza na superfície foliar e eliminados pela ação da chuva como ocorre com as espécies *Tamarix* sp. e *Atriplex* sp.. Devido a tais estratégias essas plantas também são denominadas de 'incluidoras' de sal (MIAN et al., 2011).

As plantas glicófitas, compreendem as espécies mais importantes economicamente, são sensíveis ao estresse salino (KADER et al, 2010) e quando submetidas a altas concentrações de sais indicam sinais de inibição do crescimento, descoloração foliar e perda de massa seca, sendo a inibição do crescimento o sintoma mais característico (MUNNS, 2002). A maioria das espécies glicófitas toleram substratos com condutividade elétrica (CE) igual ou superior a 4,0 dS m<sup>-1</sup> (o que corresponde, aproximadamente, a 40 mM NaCl ou 0,27% sal) (RIBEIRO et al., 2007; MUNNS & TESTER, 2008). Essas espécies são classificadas como moderadamente sensíveis, tolerando CE entre 4 a 6mS cm<sup>-1</sup> (40 a 60 mM), como por exemplo alfafa (Medicago sativa L.), trevo (Trifolium repens L.), milho (Zea m. L.), batata (Solanum tuberosum L.), arroz (Oriza sativa L.) e alface 24 (Lactuca sativa L.); e sensíveis, as quais toleram CE de zero a 4 mS cm<sup>-1</sup> (0 a 40 mM), como o feijoeiro (*Phaseolus* vulgaris L.), macieira (Malus sp.), limoeiro (Citrus limon L.), morangueiro (Fragaria sp.L.), laranjeira (Citrus aurantium L.) e cenoura (Daucus carota L.) (GIANELLO et al., 1995). Apesar das plantas glicófitas partilharem da maioria dos mecanismos de tolerância detectados em plantas halófitas, a regulação de tais sistemas ainda não estão bem adaptados a níveis moderados e elevados de sal, resultando assim, em maior grau de sensibilidade. As espécies menos sensíveis, restringem a translocação do sal para os tecidos da parte aérea e são, portanto, classificadas como 'excluidoras' de sal (MIAN et al., 2011).

Para entrar nas raízes ocorre a absorção dos solutos através das membranas celulares e pode ocorrer pelo transporte passivo que ocorre contra o gradiente de potencial químico e eletroquímico ou ativo, a favor desses. A difusão de moléculas através de membranas biológicas é bastante restrita, devido à baixa permeabilidade da bicamada lipídica para moléculas polares (com exceção da água) e iônicas. Para que ocorra a absorção dessas substâncias, as membranas plasmáticas possuem proteínas transportadoras (bombas, carreadores e canais) que facilitam a passagem de íons e outras moléculas (TAIZ & ZEIGER, 2009).

O sódio é um íon pequeno e por não existirem transportadores específicos para esse cátion, ele é absorvido por competição através de carregadores de  $K^+$  e  $Ca_2^+$ , que se localizam na membrana celular. O  $Na^+$  pode também ser absorvido por meio de canais de baixa afinidade, os chamados canais não seletivos de cátions. O movimento do  $Cl^-$  através das membranas celulares também requer o transporte através de proteínas de membranas. O mecanismo pelo qual o cloreto passa através da membrana é determinado por critérios termodinâmicos (MÄSER et al., 2002)

Os efeitos fisiológicos da salinidade no metabolismo celular dos vegetais é consequência do estresse osmótico e iônico. O estresse osmótico resulta da elevada concentração de solutos na solução do solo, que provoca redução nos potenciais hídrico e osmótico, fazendo com que o solo retenha mais água e com isso disponibilizando menor quantidade para planta. O estresse iônico, causado por elevados teores de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>que pode ocasionar toxicidade iônica e desequilíbrio nutricional, devido a deficiência de íons como potássio, cálcio, magnésio, fósforo e nitrato, já que a alta concentração de sódio alem de

afetar as células compete com os sítios de potássio que são essencias ao vegetal (WILLADINO et al, 2010). Nestas condições ocorre alteração do metabolismo do Ca<sup>2+</sup>, já que o Na<sup>+</sup> substitui o Ca<sup>2+</sup> das membranas celulares afetando a permeabilidade das mesmas e reduzindo sua elasticidade. O cálcio também está envolvido no processo de transdução de sinais do local de percepção do estresse para a síntese de proteínas codificadoras de genes sinalizadores do estresse, os quais regulam o controle da homeostase celular do tecido vegetal (TURKAN et al, 2009).

A tolerância à salinidade é definida como a capacidade das plantas crescerem, desenvolverem-se e completarem seu ciclo de vida sobre um substrato que contém elevadas concentrações de sais solúveis, sendo uma característica multigênica complexa, envolvendo muitos mecanismos fisiológicos e bioquímicos que variam entre as espécies com níveis de tolerância diferenciadas (MUNNS et al, 2008). Os principais mecanismos contribuintes para este fator incluem: controle adequado da absorção dos íons pela raiz, regulação do influxo no interior celular, controle no transporte a longa distância com compartimentalização em nível celular e tecidual e processos mediados por transportadores de membrana de cátions e ânions. Além desses fatores, alguns estudos têm apontado que espécies de plantas tolerantes à salinidade incrementam a atividade de suas enzimas antioxidantes em resposta a elevadas concentrações de sal, enquanto espécies sensíveis ao sal não conseguem fazê-la (TURKAN et al, 2009).

No entanto, para que estes mecanismos de defesa possam ser ativados, as plantas primeiramente necessitam perceber o estresse a partir de sensores e então, ativar uma sinalização em serie, começando pela elevação da concentração de cálcio citosólico ([Ca<sup>+2</sup>]cit) em coordenação com as mudanças no pH citosólico (pHcit) sendo que esses mecanismos podem ocorrer concomitantemente ou individualmente. Esse controle é realizado pelos canais e transportadores de membrana responsáveis pelo influxo e efluxo de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (KADER et al, 2010). A principal estratégia para lidar com o estresse salino é um rigoroso controle do influxo de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> do solo para as raízes, enquanto que as halófitas equilibram a obtenção de compostos inorgânicos para o crescimento e requerimento osmótico, a maioria das glicófitas possuem influxo unidirecional de Na<sup>+</sup>, o qual, na maioria das vezes, excede a capacidade celular (KRONZUCKER et al., 2006).

A extrusão de Na $^+$  do citosol para o vacúolo ou para o apoplasto, ocorre através do sistema antiporte Na $^+$ /H $^+$ , que é um transporte ativo secundário que utiliza o gradiente eletroquímico estabelecido pelas bombas H $^+$ -ATPase ou H $^+$ -PPiase das membranas. As bombas H $^+$ -ATPase são as principais responsáveis pelo gradiente de pH e pelo gradiente eletroquímico encontrados na membrana plasmática, enquanto que uma H $^+$ -PPiase ou uma H $^+$ -ATPase da membrana vacuolar geram esses gradientes através do tonoplasto. A atividade dessas bombas é necessária para o sistema antiporte, Na $^+$ /H $^+$ , que conduz íons H $^+$  e Na $^+$  em direções opostas, acumulando o cátion Na $^+$  no vacúolo ou excluindo o mesmo da célula (MUNNSet al., 2008 ).

Os mecanismos desenvolvidos pelas plantas tolerantes ao sal inclui a absorção de íons tóxicos no citosol, tais como Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> e o sequestro destes íons para o interior do vacúolo, apoplasto, ou em outras organelas como o retículo endoplasmático e o complexo de golgi. Quando compartimentalizado no vacúolo, o Na<sup>+</sup> não é mais tóxico para as células o que se torna vantajoso para o crescimento devido ao ajuste osmótico estabelecido pela compartimentalização. A compartimentalização de Cl<sup>-</sup> também é necessária para a tolerância à salinidade, e foi relatado que parte do Cl<sup>-</sup> sequestrado no vacúolo é proveniente de canais iônicos e de alguns canais de ânions voltagem dependente de Cl<sup>-</sup>pertencente à família (CLC-

Voltage Gated Cl<sup>-</sup> Channel). Em cultivares de arroz sensíveis, a transcrição de OsCLCafoi significativamente auto-regulada em resposta à presença de sal (FLOWERS et al, 1977).

As raízes são os órgãos mais vulneráveis por estarem em contanto direto com o substrato, sendo que a inibição de seu crescimento é uma resposta primária em plantas submetidas ao estresse salino. O crescimento das raízes pode ser afetado pelo sal em termos de massa fresca, massa seca e comprimento, podendo provocar alterações na morfologia da raiz e inibição do alongamento de raízes laterais. Em algumas espécies a concentração de sais não atinge níveis osmóticos ou tóxicos capazes de prejudicar a absorção de água, no entanto, o acúmulo de íons pode provocar interferências indiretas ao desempenho normal do metabolismo (MUNNS et al, 2008).

A germinação é influenciada por fatores externos que interferem na embebição da semente, já que a maioria dos processos bioquímicos e fisiológicos depende da disponibilidade da água, resultando na protrusão da raiz primária. No entanto, a absorção de água pode ser prejudicada pelo excesso de sais solúveis, reduzindo o potencial hídrico do solo ou do substrato. Estas diminuições associadas aos efeitos tóxicos dos sais no protoplasma da semente prejudicam a germinação, a velocidade da germinação, resultando na formação de plântulas com crescimento reduzido, caracterizado pela diminuição no comprimento da plântula e menor acúmulo de matéria seca (BARROSO et al., 2010).

Na literatura é facilmente encontrado trabalhos relacionandos ao efeito fitotóxico causado pela salinização (MUNNS et al, 2008; WILLADINO et al, 2010; TOPPA et al, 2011). O manejo correto de água (AHMED et al 2009) ou a utilização de cultivares mais tolerantes (TIMM, 2012), são sugeridas como opções de manejo que poderiam amenizar a salinidade como também a adição de matéria orgânica.

Geralmente, ambientes salinos possuem pH elevado, portanto alternativas de manejo que decresce o pH poderiam aumentar o crescimento de plantas nestes ambientes. As plantas supridas com NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, devido a liberação de H<sup>+</sup> na rizosfera, poderiam alterar o pH desta região, favorecendo o seu crescimento e desenvolvimento em ambientes salinos.

## 2.4 Aplicação foliar de nutrientes

Nas folhas das plantas como nas raízes ocorre a absorção de nutrientes e água, e os caminhos utilizados por sais minerais após o contato com a superfície foliar geram varias rotas até a absorção completa pela planta (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A folha é um apêndice caulinar presente em quase todos os vegetais superiores, salvo exceções, como por exemplo, em algumas espécies das famílias Euphorbiaceae e Cactaceae, onde nesta última é comum a transformação em espinhos. A folha é o órgão vegetativo que apresenta grande polimorfismo e adaptações a diferentes ambientes e funções. No geral são estruturas planas, de modo que o tecido clorofiliano, responsável pela fotossíntese, fica próximo à superfície. Se a forma da folha facilita a captação da luz, as aberturas necessárias para a absorção do gás carbônico levam ao mesmo tempo à perda de água. As folhas são as principais fontes de perda de água das plantas. Tendo-se em conta que a transpiração excessiva pode levar à desidratação e, até mesmo, à morte das folhas ou das plantas, em sentido amplo, a forma e a anatomia da folha devem possibilitar uma relação que permita a captura de luz e absorção de gás carbônico, evitando a perda excessiva de água. Além da fotossíntese, outros processos fisiológicos importantes para as plantas têm lugar nas folhas, tais como: respiração, transpiração e reserva de nutrientes (LEECE,1976).

Assim deve-se ter a compreensão e separação do que vem a ser absorção de nutrientes pelas folhas e seu transporte para outras partes da planta. A absorção é a entrada do nutriente na célula, e o transporte é o movimento do nutriente no mesmo órgão no qual ocorreu a absorção ou seu movimento para outro órgão. A absorção e o transporte são dois processos diferentes e podem acontecer concomitantemente. Para que o nutriente entre no citoplasma, é preciso que atravesse a cutícula foliar, a parede celular e a plasmalema (BOARETTO et al., 2002).

A cutícula recobre toda a superfície da folha e mesmo internamente, na câmara estomática é composta por cutina, polímeros de carboidratos (pectinas e celulose) e especialmente ceras. A parede celular é de natureza celulósica, e as moléculas de celulose são formadas por longas cadeias de 1.000 a 5.000 moléculas de beta-D-glucose, e dispondo-se em linhas paralelas, que, em conjunto, são denominadas micelas. Entre as micelas, existem espaços vazios, denominados espaços intermicelares. À reunião de micelas, dá-se o nome de microfibrilas. A parede celular é formada por uma emaranhado de microfibrilas). A plasmalema envolve o citoplasma, recobrindo também os ectodesmas, isto é, invaginações do citoplasma as quais atravessam a parede celular e, quase totalmente, a cutícula (CAMARGO & SILVA, 1975; LEHNINGER, 1993)

Duas propriedades são de muita importância para o entendimento da absorção foliar: a molhabilidade e a troca iônica. A molhabilidade é a propriedade que a folha tem de permitir a aderência das gotículas de solução contendo micronutrientes que entram em contato com a sua superfície e deixar que a solução penetre em seu interior. A molhabilidade da folha reflete a quantidade de água retida por unidade de área. As superfícies foliares podem ser classificadas de acordo com o ângulo de contato externo em: molháveis (ângulo de contato externo < 90°) e superfícies altamente repelentes (ângulos de contato externos > 110°). Quando as folhas possuem uma molhabilidade intermediária, pode-se adicionar agentes molhantes às soluções para serem aplicadas sobre as folhas. O fenômeno ocorre porque, aumentando o contato da solução com a superfície foliar, haverá maior possibilidade de penetração da solução contendo os nutrientes. (BOARETTO, 2003).

Mas alguns fatores podem afetar a absorção dos nutrientes na folha, tais como: as características da própria folha, como sua estrutura, composição química da cutícula e a idade. Nos fatores inerentes às soluções de nutrientes, podemos destacar a solubilidade dos nutrientes, sua mobilidade na folha, e a interação entre nutrientes, a concentração das soluções e o pH da solução. Outros fatores como luminosidade, disponibilidade de água no solo, umidade atmosférica, temperatura e modo de aplicação contribuem para o sucesso da absorção do nutriente quando aplicado na folha (CAMARGO & SILVA, 1975; MALAVOLTA, 1981).

Com relação à mobilidade na folha e após a aplicação os nutrientes são classificados como: altamente moveis: o nitrogênio e potássio, móveis: fósforo, cloro, enxofre e magnésio, parcialmente móveis: molibdênio, manganês, zinco e ferro, e imóvel: o cálcio e o boro (ROSOLEM, 2002).

Na entrada do nutriente na folha, a cutícula é a primeira barreira a ser vencida pelas soluções aplicadas, e após esta etapa as soluções penetram e difundem-se no apoplasto, atravessam a plasmalema e atingem o simplasto e são utilizadas pelas plantas. Os nutrientes podem ser absorvidos também pelos estômatos, que são uma via importante para a absorção de nutrientes, se estiverem presentes na superfície superior das folhas (adaxial), local este em que se faz a pulverização do adubo foliar. Porém, em muitas espécies folhosas, os estômatos

estão localizados na superfície inferior da folha (abaxial), de modo que a infiltração de soluções de pulverização pode ocorrer de forma limitada (FERREIRA et al, 1999).

O íon para atingir a plasmalema, deve atravessar a cutícula ou a parede celular que tem cargas negativas, assim os anions e substâncias sem carga tem transito livre e seu movimento é limitado apenas pela seu tamanho em relação ao tamanho dos poros. Já as substâncias com carga positiva serão ligadas a parede e terão melhor penetração quando as cargas da parede estiverem saturadas. A passagem dos íons pode também ser limitada fisicamente pela rede de poros formado na cutícula e parede celular (ROSOLEM, 2002).

A passagem do íon através da membrana pode ser desdobrada em duas fases: a ativa e a passiva. Na forma passiva o nutriente aplicado atravessa a cutícula, a parede celular e os espaços intercelulares, chegando a superfície externa do plasmalema, podendo se movimentar através do ectodesmata. Nesta fase a absorção é reversível e sua velocidade e reversibilidade dependem das características da folha e do ambiente. Na fase ativa o elemento atravessa a plasmalema, atingindo o citoplasma e pode ser acumulado no vacúolo ou ser transportado para outras partes da planta. A absorção nesta fase é metabólica e dependendo da energia pode ser inibida, sendo também demorada e irreversível, ocorrendo gasto de energia proveniente da fosforilação oxidativa dos mitocôndrios e da fosforilação fotossintética que ocorre nos cloroplastos (ROSOLEM, 2002; BOARETTO et al., 2003)

O nutriente, chegando ao citoplasma celular, pode atravessar o tonoplasto para chegar ao vacúolo, ou pode translocar-se para outras células por via de plasmodesmas, até chegar ao floema das nervuras e, daí, ser transportado para os locais de consumo, formando os compostos que fazem parte do organismo vegetal, e o maioria dos íons são transportados para fora da folha via floema, atravessando o mesofilo, entram nos elementos crivados e depois são transferidos ao floema. Alguns com açucares, na forma inorgânica, ligado a polissacarídeos (FRANCESCHI & GIAQUINTA, 1983)

A adubação foliar fundamenta-se na premissa de que as folhas das plantas podem absorver nutrientes, e esta pratica tem sido usada de forma preventiva, corretiva, substitutiva, complementar e suplementar no estádio reprodutivo (ROSOLEM, 2002), nos estudos realizados por MACEDO (2010) observaram-se o efeito da aplicação foliar de diferentes fontes de nitrogênio em plantas de feijão na associação destas plantas com bactérias fixadoras de nitrogênio.

## 2.5 Utilização do fungo *Trichoderma* na atividade agrícola

Dentre os agentes de biocontrole mais utilizados na agricultura, as espécies de fungo pertencem ao gênero *Trichoderma* e atuam como antagonistas de diversos fitopatógenos em várias culturas, sendo este fungo um micoparasita heterotrófico e necrotrófico natural do solo e adaptado a suportar diferentes condições ambientais e com potencialidade para reduzir a produção de inóculos de microorganismos (SAMUELS et al., 2000). O fungo Trichoderma sp. corresponde à fase anamórfica do gênero Hypocrea sp. que pertence ao filo Ascomycota (AGRIOS, 1997). As espécies deTrichoderma geralmente são encontradas como componentes da microbiota em quase todos os tipos de solos, especialmente os orgânicos, incluindo na camada de húmus das florestas, solos agrícolas e pomares. Esse genero pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos (ROIGER et al., 1991).

Utilizados como agente de controle biológico de doenças, devido à facilidade em sobreviver no solo, e por parasitar outros fungos ou viversaprofiticamente, atua como

micoparasita necrotrófico eficaz no controle de muitos fungos fitopatógenos, principalmente os que têm estruturas de resistência que dificultam o ataque por outros microrganismos (MELO, 1998). O gênero Trichoderma pertence à classe dos fungos ascomicetos e tem sido comumente utilizado na produção de muitas exoenzimas em escala industrial (por exemplo, as enzimas celulolíticas), além de atuar nos processos de biodegradação de compostos clorofenólicos e na biorremediação do solo (ESPOSITO et al, 1998). Nesse gênero, as características morfológicas que definem as espécies são muito variáveis e, por isso, tem sido utilizado pelos taxonomistas o termo 'agregado de espécies', referindo-se a um grupo de espécies morfologicamente muito semelhantes (SAMUELS, 1996). As espécies deste gênero são caracterizadas por apresentarem crescimento rápido, atingindo de 2 a 9 cm de diâmetro após quatro dias de crescimento em meio de cultura (ESPOSITO et at, 1998).

Espécies de Trichoderma são potenciais antagonistas de diversos fungos ftopatogênicos e são vários os mecanismos de ação utilizados por esses fungos, dentre os quais, destacam-se a produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas, o hiperparasitismo e a competição por nutrientes (HARMAN et al., 2004). Como vantagem adicional, esses microrganismos são referidos como atóxicos ao homem e animais (MERTZ et al., 2009) e como simbiontes avirulentos associados às plantas (HARMAN et al., 2004). Portanto, representam uma possível alternativa para controle de patógenos de sementes. A indução dos sistemas de defesa da planta e um outro mecanismo utilizado por agentes de biocontrole, como Trichoderma spp. Esse processo ocorre quando as plantas expostas a um agente indutor tem seus mecanismos de defesa ativados, não apenas no sitio de indução como também em outros locais dele distantes, de forma mais ou menos generalizada (ROMEIRO, 1999).

A capacidade saprofítica do *Trichoderma* está na quantidade de enzimas hidrolíticas produzidas e liberadas. Estas enzimas apresentam efeito sinérgico com os antibióticos visto que a ação antifúngica de ambos compostos tende a ser superior a qualquer um deles agindo separadamente (BETTIOL et al, 1995). A quantidade de enzimas hidrolíticas produzidas por *T. harzianum* segundo GÓMEZet al. (1997) é diferente em cada interação parasitohospedeiro, correlacionado-se com a capacidade de que cada isolado de *Trichoderma* tem em controlar um patógeno específico. Para este autor, estas diferenças na produtividade enzimática podem também explicar a variabilidade da atividade antagônica entre isolados.

As enzimas hidrolíticas são aquelas produzidas e liberadas pelos fungos antagonistas durante o seu processo micoparasítico para degradar os componentes constituintes da parede celular dos patógenos. Estas devem manter-se presentes para exercer o papel lítico significante (LORITO et al., 1994). Esta categoria de enzima digere a parede celular do hospedeiro, possibilitando a utilização de nutrientes intracelulares pelo fungo antagonista. Tal barreira é o ponto inicial das interações envolvidas no processo de antagonismo entre fungos (LORITO et al., 1994). As enzimas hidrolíticas capazes de lisar os componentes da parede celular desempenham, portanto, papel fundamental no processo antagônico do micoparasitismo. As quitinases (endoquitinases, exoquitinases e B-1,4-Nacetilglucosaminidases), as exoglucanases e endoglucanases do tipo \( \beta \)- glucanases (\( \beta \)-1,3 e β-1,6), as proteases e as celulases (β-1,4- D-glucosidases), são as hidrolases identificadas nos fungos do gênero Trichoderma (DE MARCO et al., 2000). A produção e aplicação de 1,3-Bglucanases foi caracterizada como uma atividade enzimática importante no biocontrole de microorganismos.

Alguns isolados de Trichoderma têm sido referidos como estimuladores do crescimento vegetal, pela habilidade que possuem na solubilização de fosfato e outros

minerais, colocando-os disponíveis também pela produção de análogos de auxinas (HARMAN, 2000). Nos estudos realizados por CARVALHO FILHO (2010), quando avaliou o crescimento de mudas de eucalipto em substrato com diferentes isolados de *Trichoderma harzianum*, observou que ocorreu aumento das concentrações do fitohormônio AIA nas raízes e que também aumentaram sua da massa seca e da parte aérea das plântulas de eucalipto. Também é conhecida a ação dos compostos sideróforos que são moléculas de baixo peso molecular, quelante de íons férricos e sintetizados por vários microrganismos, que resulta na solubilização do ferro presente no solo, em benefício das plantas. A produção de sideróforos coloca o microrganismo em vantagem sobre seus competidores na competição pelo ferro disponível no ambiente (BENÍTEZ et al., 1998).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são excelentes hiperparasitas, pois atacam hifas e estruturas de reprodução e sobrevivência dos patógenos de plantas, reduzindo a infecção e o inóculo do patógeno. A capacidade saprofítica do *Trichoderma* está na quantidade de enzimas hidrolíticas produzidas e liberadas. Estas enzimas apresentam efeito sinérgico com os antibióticos visto que a ação antifúngica de ambos compostos tende a ser superior a qualquer um deles agindo separadamente (BETTIOL et al,1995).

O antagonismo inicia-se com o crescimento quimiotrópico do Trichoderma em resposta a algum estímulo químico da hifa do hospedeiro, detectando-o. O primeiro sinal de interação demonstrado pelo Trichoderma ao seu hospedeiro é específico e controlado. O reconhecimento e ligação do micoparasita ao hospedeiro se da através das 'lecitinas' presentes nos polissacarídeos extracelulares deste (ELAD, 1990). Essas moléculas são glicoproteínas que aglutinam células e precipitam glicoconjugados; no caso da interação com o micoparasita, carboidratos específicos na parede celular deste são os componentes que ligam-se às lecitinas do hospedeiro, conferindo a compatibilidade de ligação entre os dois (ELAD, 1990). Diferentes carboidratos interagem com diferentes lecitinas, conferindo especificidades de ligação entre isolados diferentes e seu respectivo hospedeiros e quando o micoparasita faz este contato físico com seu hospedeiro, suas hifas aderem-se por meio de estruturas especializadas denominadas 'apressórios' e enrolam-se ao redor das hifas do hospedeiro Esse contato físico é o disparador da emissão de enzimas hidrolíticas pelo micoparasita, as quais degradam os componentes da parede celular do hospedeiro, facilitando a penetração (CHET et al., 1998). O microparasita, então, penetra no lúmen da hifa do hospedeiro, visando assimilar e metabolizar seu conteúdo protoplasmático. Observações ao microscópio eletrônico têm permitido sugerir que Trichoderma produz e secreta enzimas hidrolíticas responsáveis pela degradação parcial e/ou total da parede celular do seu hospedeiro (ELAD, 2000). Outros resultados que apóiam esta hipótese tem mostrado que Trichoderma produz extracelularmente glucanases, quitinases, lípases e proteases que são capazes de degradar a parede celular do microrganismo antagonista (CHET et al., 1998; DE MARCO et al., 2000).

De acordo com HOWELL (1987), além de suas diversas características, a presença do *Trichoderma* spp. no solo torna os nutrientes solúveis, permitindo maior e mais rápida absorção. Por isso, solos contendo *Trichoderma* spp. apresentam maior teor húmico, originários da lignina que é decomposta por este microrganismo. Desta forma, ocorre o aumento da área radicular da planta, acompanhado do aumento da massa verde em culturas que são tratadas com *Trichoderma* spp. Segundo HARMAN (2000), os fungos são favorecidos pela presença de níveis elevados de raízes, as quais colonizam facilmente. Algumas estirpe são altamente capazes de colonizar e crescer em raízes do mesmo modo como elas se desenvolvem.

As estirpes que colonizam melhor a rizosfera podem ser adicionadas ao solo ou em sementes por qualquer método. Depois que elas entram em contato com as raízes, colonizam a superfície da raiz ou córtex, dependendo da estirpe. E Segundo ALTOMARE et al., (1999) a promoção de crescimento em plantas foi promovida pelo isolado T-22 de T. harzianum está na sua habilidade de solubilizar muitos nutrientes importantes para a planta. No solo, macro e micronutrientes sofrem um equilíbrio dinâmico complexo de solubilização e insolubilização, fortemente influenciado pelo pH e pela microflora, os quais afetam sua acessibilidade para absorção pelas raízes das plantas. Também nos estudos de HARMAN (2000) com a aplicação de nitrogênio no solo juntamente com a utilização do isolado T-22 de T. harzianum, constatou que inicialmente não ocorreram diferenças entre áreas com e sem nitrogênio, mas na presença do nutriente, plantas adultas apresentaram maiores médias de diâmetro de talos e rendimentos de grãos e silagem. CHANGet al. (1986), utilizando tratamento de solo com suspensão de conídios de T. harzianum observaram promoção de crescimento da planta através do peso de massa seca superior à testemunha, no feijoeiro de 10%, no rabanete de 8%, no tomateiro de 37%, na pimenteira de 42% e no pepineiro de 93%. KLEIFELD & CHET (1992) também obtiveram resultados positivos na promoção de crescimento em pepineiro (massa seca) por isolado de T. harzianum, tanto em solo autoclavado (26%) quanto em solo não autoclavado (43%). Nos estudos de OUSLEYet al. (1993) observaram que apenas um dos isolados de *T. harzianum* apresentou melhor resultado (5%) do que a testemunha quanto ao crescimento (massa seca) em alface. O isolado T-22 de T. harzianum foi efetivo na indução de formação de raízes em tomateiro, tanto quanto um hormônio comercial, e ocorreu aumento nas raízes de soja e milho tratadas com o referido isolado e maior produtividade de pimentão comparados com testemunhas não tratadas (HARMAN, 2000). HARMAN (2007), tratando sementes de milho e algodão com os isolados T12, T95 e T22 (fusão dos dois anteriores) de T. harzianum observaram que o isolado T-22 promoveu crescimento das raízes, em relação à testemunha, de 31% em milho e 60% em algodoeiro.

A contribuição de *Trichoderma* spp. na germinação também é comprovada, KLEIFELD & CHET (1992) observaram ação positiva de isolado de *T. harzianum* em tratamento de semente e de solo na germinação (5 dias após a semeadura) de feijão em 77 e 100%, rabanete em 58 e 100%, tomate em 100 e 70%, pimenta (12 dias após a semeadura) em 90% e pepineiro 90 e 100%, respectivamente, o que evidenciou que as variações nos resultados, neste experimento, são decorrentes da forma de tratamento e da cultura.

SANTOS (2004) acha, que a habilidade dos fungos do gênero *Trichoderma* na promoção de desenvolvimento de plantas pode estar relacionada à sua capacidade de associação simbiótica às raízes das plantas, juntamente com sua ação decompositora, disponibilizando nutrientes prontamente absorvíveis para as plantas, e, ainda, habilidade como agente de controle biológico, inibindo a ação de fitopatógenos, que podem interferir de forma direta no desenvolvimento normal da planta. ALTAMORE et al. (1999) postulou que a promoção de crescimento em plantas, pelo menos no caso do isolado T-22, reside na sua capacidade de solubilização de nutrientes importantes para a planta. A interferência de *Trichoderma* spp. no crescimento de plantas e o aumento na produtividade acorrem, segundo HARMAN et al. (2004), devido à sua capacidade em colonizar as raízes.

As espécies de *Trichoderma* tem sido utilizadas em formulações comerciais empregadas para o controle biológico de fungos causadores de doenças em plantas, reduzindo a necessidade da aplicação de fungicidas químicos, poluentes do meio ambiente. O *T. harzianum* é o agente ativo do composto comercial 'Tricodex', que é utilizado contra o fungo

causador do apodrecimento pós-colheita da maçã e está também combinado com o *Trichoderma polysporum* no composto denominado 'Binab-T', utilizado no controle do apodrecimento da madeira (RICARD, 1981). O composto 'GlioGard' possui o fungo *T. virens* como seu agente ativo e é utilizado na prevenção do tombamento de plântulas causado por espécies de *Phytium e Rhizoctonia* (LUMSDEN et al, 1989), o *T. stromaticum* vem sendo experimentalmente usado como agente de controle biológico de vassoura de bruxa e tem gerado bons resultados desde 1995 e já foi incorporado como base para a produção do biofungicida 'Tricovab', desde 1996, no controle biológico da vassoura-de-bruxa. Em suma, este gênero apresenta um vasto potencial em áreas diversas, tais como agrícola, industrial e ambiental (BASTOS, 1996) sendo avaliado resultados promissores em experimentos preliminares demonstram que essa espécie, através do micoparasitismo, pode reduzir em 99% a formação de basidiocarpos em vassouras em contato com o solo e em 56% em vassouras presas à planta (BASTOS, 2001).

Nos estudos de AMORIM E ITAMAR (1999), os autores testaram a ação conjunta de isolados de *T. harzianum* e *T. koningii* e de uma suspensão de rizobacterias contendo *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* e *Bacillus subtilis* em raizes de mudas de *Citrus sp*, que foram transplantadas para substratos pre-infestados com *P. parasítica* e *P. citrophthora*, sendo verificado o controle dos dois patógenos. Estudos na cultura da maçã, tiveram resultados positivos com a aplicação de Trichoderma sp. para o controle de *Phytophthora cactorum*. Plantas jovens foram inoculadas com Trichoderma sp., resultando em uma redução significativa da morte das arvores (VALDEBENITO-SANHUEZA,1987). HANADA et al. (2006) realizaram diversos estudos com *Trichoderma viride* para controlar a podridão-parda dos frutos causada por *P. palmivora* em cacaueiro. Nos estudo realizados por Tocafundo (2008), na seleção de estirpes de Tricoderma para controle de *Phythofora palmivora* em plantas de mamão, verificou-se que as estirpes usadas não diminuíram a severidade da doença nas plantas de mamão. No controle de doenças em frutos SILVA et al, (2011), verificaram que os isolados de Trichoderma utilizados controlaram a antracnose e induziram a resistência a doenças nas plantas de pepino.

Até o presente não foi encontrado na literatura nenhum trabalho que tenha relacionado os efeitos do Trichoderma na raiz, sua interação com fontes de nitrogênio, nem seu possível efeito na diminuição do efeito da salinidade. O efeito de fungo em planta precisa ser melhor entendido, principalmente relacionando com outros estudos, como toxicidade e resistência biótica e abiótica da planta.

#### 2.6 Considerações sobre as plantas avaliadas neste trabalho

#### 2.6.1 Café

O Brasil possui a mais moderna cafeicultura do mundo com lavouras tecnificadas e produtivas. Há uma predominância do caféarábica (*Coffea arabica* L) representando em torno de 77,15% da área total plantada (CARVALHO, 2009). O Brasil tem sido o principal produtor mundial seguido peloVietnã, Colômbia, Indonésia, México, Índia, Guatemala, Etiópia e Costa do Marfim, entre outros (NOGUEIRA, 2005).

O café arábica é originária da Etiópica, em região restrita e marginal às demais espécies e seu no ambiente de origem situa entre 1.000 e 2.000 m de altitude, em condições de sub-bosque, com elevada umidade relativa ar. O *C. canephora* é originária de uma ampla região da Guiné ao Congo, da costa oeste à região central do continente africano Na origem situa-se em baixa altitude, elevada precipitação, entre 1.500 e 2.000 mm, e temperatura média anual entre 22° e 26° C. O cafeeiro é um arbusto perene, com altura variável e copa cilíndrica, a espécie *C. arabica* possui apenas um caule cilíndrico, enquanto a espécie *C. canephora* é multicaule. Com relação ao sistema radicular as raízes alimentadoras são curtas, diâmetro inferior 1 mm, esbranquiçadas e não são permanentes "renovadas" e a maior parte das raízes ativas estão nos primeiros 25 cm de solo próximas do tronco até a projeção da copa (GUERREIRO –FILHO et al, 2010).

Sobre a nutrição mineral do cafeeiro, alguns elementos podem afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas (FAQUIN, 2005). É necessário que haja disponibilidade e absorção dos nutrientes em proporções adequadas, via solução do solo ou, como suplementação, via foliar. Cada um destes nutrientes tem uma função específica no metabolismo das plantas. Desequilíbrios em suas proporções podem causar deficiência ou excesso de nutrientes, causando limitações ao crescimento das plantas ou mesmo sua morte (DECHEN & NACHTIGALL, 2007).

#### 2.6.2 Girassol

O cultivo do girassol no Brasil ocupa uma área de aproximadamente 100.000 ha, concentrado, principalmente, na região dos Cerrados (CONAB, 2008). O girassol (*Helianthus annus* L.) teve inicialmente o Peru definido como seu centro de origem, porém, pesquisas arqueológicas revelaram o uso do girassol por índios norte-americanos, com pelo menos uma referência indicando o cultivo nos Estados de Arizona e Novo México, por volta de 3000 anos a. C. (BORTOLINIet al, 2012). A planta se adapta bem a diversas condições edafoclimáticas, caracterizando- se pela tolerância a baixas temperaturas na fase inicial de desenvolvimento e pela relativa resistência a déficits hídricos. Pode ser cultivada em todas as regiões do País, pois o rendimento é pouco influenciado pelas latitudes e altitudes, assim como pelo fotoperíodo, o que facilita a expansão do cultivo no Brasil (CASTRO & FARIAS, 2005).

O sistema radicular é pivotante, crescendo mais rapidamente que a parte aérea da planta, no começo do desenvolvimento, sendo formado por um eixo principal e raízes secundárias abundantes, capazes de explorar um grande volume de solo e seus recursos hídricos, atingindo o máximo do crescimento na floração, quando atinge até quatro metros de profundidade em solos arenosos. Devido a sua capacidade de explorar grande volume de solo, o sistema radicular do girassol contribui para que esta planta seja mais resistente a seca) (ROSSI, 1998).

Sobre a nutrição mineral, o girassol é uma espécie sensível à acidez do solo, geralmente apresentando sintomas de toxidez de Al em pH menor que 5.2, valor comum encontrado nos solos do Cerrado brasileiro. Em relação à salinidade, é classificado como sensível, por não tolerar condições acima de 4dS.m<sup>-1</sup>. O nitrogênio (N) é o elemento mais limitante à produção sendo também o mais absorvido e exportado pelos grãos. (PAIAO, 2012).

#### 2.6.3 Maracujá

A produção de maracujá vem ganhando grande importância no Brasil, notadamente, a partir das últimas três décadas, o que coloca o pais numa situação de destaque no ranking mundial (FERREIRA, 2005). De acordo com estimativas, a produção mundial é de 640.000 toneladas por ano, sendo o Brasil, o primeiro produtor, respondendo por aproximadamente 70% desse total (IBGE - 2008). O maracujá é plantado em quase todos os estados brasileiros, proporcionando economia e renda em inúmeros municípios, com forte apelo social, pois a cultura precisa de uso intenso da mão de obra em seu cultivo. Nos últimos anos a cultura, especialmente o maracujá amarelo, ganhou impulso no Brasil, com expansão do plantio em diversas regiões, como nos Cerrados. A produtividade brasileira situa-se numa ampla faixa desde 6 até 45 toneladas por hectare, entretanto a media nacional é considerada baixa, em torno de 8 a 10 t/ha, em função da inadequada utilização de práticas culturais: tais como adubação, pragas, doenças, polinizadores, entre outros (SÃO JOSÉ, 1986).

Tem—se verificado que o maracujazeiro vem se desenvolvendo bem em uma grande amplitude de diferentes tipos de solo, desde os vulcânicos no Hawai, aos solos de cerrado do Estado de Goiás. Com relação a profundidade do sistema radicular observa-se que mais da metade das raízes localizam-se nos primeiros 30cm do solo, enquanto que de 60 a 80 % delas encontram-se a menos de 50cm do tronco (PIZA JUNIOR, 1975). Todavia, espera-se que a distribuição das raízes se modifique substancialmente sob diferentes condições de solos e manejo da cultura, sendo necessário mais estudos nessa área.

Dados de distribuição do sistema radicular também propiciam um manejo adequado da cultura, em relação ao local de aplicação dos adubos, controle de plantas daninhas, espaçamento de plantio e irrigação. A penetração das raízes no solo pode também ser afetada pela presença de camadas compactadas, excesso de acidez e/ou alumínio, deficiência de nutrientes, principalmente cálcio e fósforo ou excesso de água (PIZA JUNIOR, 1991).

#### 2.6.4 Amendoeira

A amendoeira (*Terminalia Catappa* Linn) pertence a família Combretaceae é constituída por aproximadamente 600 espécies. Os dois gêneros de maior ocorrência são *Combretum* e *Terminalia*, cada um com 250 espécies, sendo extensamente usadas na medicina tradicional africana, asiática e indiana. As espécies do gênero *Terminalia* são nativas da África e são amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (FYHRQUIST et al., 2002).

Estas arvores crescem em regiões tropicais e subtropicais, particularmente localizadas em áreas costeiras. Como consequência da migração humana, essa árvore foi introduzida e naturalizada, principalmente próximo ao litoral, em muitos países tropicais do mundo, incluindo o Brasil. Suas árvores são bastante conhecidas pela vasta sombra que proporcionam ao longo das praias da costa brasileira (THOMSON & EVANS, 2006).

Mesmo sendo comumente encontrada em áreas urbanas litorâneas, essa espécie é amplamente adaptável a diferentes solos, incluindo os inférteis e arenosos. Esta espécie tem sido tradicionalmente muito importante para as comunidades costeiras do Oceano Pacífico, provendo uma extensa gama de produtos e serviços. Nessas regiões ela é largamente plantada para sombra, ornamentação, e produção de castanhas comestíveis. Sua madeira é utilizada para confecção de utensílios e objetos decorativos em geral, móveis e construções de interiores (DE PAULA, 2008)

#### 2.6.5 Sombreiro

O sombreiro (*Clitoria fairchildiana* Howard) é uma árvore ornamental, medindo de 6-12 m de altura. Sua madeira é moderadamente pesada e de baixa durabilidade sob condições naturais, sendo empregada em construção civil como divisórias internas, forros e para confecção de brinquedos e caixotaria (LORENZI, 1998).

Sua distribuição concentra-se principalmente na Floresta Ombrófila Densa na região Amazônica em formações secundárias e apresenta nítida preferência por solos férteis e úmidos. Sendo uma espécie rústica e de rápido crescimento, é extremamente útil nos reflorestamentos heterogêneos destinados à reconstituição da vegetação. É uma árvore nativa muito utilizada em paisagismo urbano, pelo rápido crescimento e beleza das flores. Para áreas verdes urbanas cuidados fitossanitários devem ser realizados a fim de conservar estas espécies que apresentam-se constantemente atacadas por fitopatógenos (LIMA NETO & SOUZA, 2011).

#### 2.6.6 Abacaxi

O abacaxi (*Ananas comosus* Merril) pertence à família Bromeliaceae e todas as variedades de abacaxi de interesse para a fruticultura fazem parte dessa espécie. O abacaxizeiro adulto pode ter de 70–80 folhas, que podem se apresentar espinhosas, lisas ou semi-espinhosas e com espinhos apenas na extremidade. É uma planta semiperene, com sistema radicular formado por parte sob o solo, com 0,15 m a 0,50 m de profundidade, bem estendido lateralmente, podendo atingir 1,5 m de raio da planta; e outra parte sobre o solo, com raízes adventícias. Sua reprodução normalmente é feita por via vegetativa, através de rebento da base da haste, os filhotes e/ou das coroas das plantas (CUNHA et al., 1999). O abacaxizeiro é uma planta que apresenta mecanismos morfológicos e fisiológicos típicos de plantas xerófilas, capazes de lhe conferir alta eficiência no uso da água (CARVALHO, 1998).

O cultivo de abacaxi é realizado em todas regiões do Brasil, sendo considerado uma planta que pode possibilitar bom retorno econômico ao produtor (MORGADO et al 2004). Desta forma para ter uma produtividade satisfatória necessita do uso de fertilizantes durante seu desenvolvimento no campo, já que a adubação influencia diretamente a qualidade dos frutos (COELHO et al., 2007) e a adubação nitrogenada alem de ser muito exigida pela planta, influencia na acidez e teor de sólidos solúveis dos frutos (PAULA, et al,1991). Os estudos realizados por LE VAN & MASUDA (2004) que avaliaram a tolerância ao alumino de varias cultivares de abacaxi, verificou que as cultivares mais tolerantes tem o crescimento radicular inibido em concentração acima de 200µM.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

As metodologias comuns, em mais de um experimento, estão descritas no final do material e métodos. Para associar-se com o principal objetivo desta tese, os parâmetros fisiológicos tais como toxicidade de Al, efeito da salinidade, efeito do *Trichoderma* spp, local da aplicação de N, foram estudado inicialmente nas espécies para posteriormente serem utilizados as fontes de nitrogênio.

#### 3.1 Avaliação da tolerância de alumínio

### 3.1.1 Experimento 1. Seleção de cultivares de Girassol tolerante a altas concentrações de alumínio

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando as cultivares de girassol (*Helianthus annus*) oriundas da Heliagro Science and Crops. As sementes foram germinadas em areia lavada e seis dias após a semeadura foram transplantadas duas plântulas por vaso com capacidade de 500mL contendo 450mL de solução nutritiva simples. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com 4 cultivares (Helio 250, 251, 253 e 360) e seis concentrações de alumínio (0, 160, 320, 640, 1280 e 2560µM) e com 4 repetições. O alumínio foi aplicado na forma de AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. Aos dez dias após o transplante para a solução as plântulas foram coletadas e avaliadas o comprimento da raiz principal e da parte aérea, elongação radicular relativa (ERR%), massa seca de raiz e parte aérea.

# 3.1.2 Experimento 1.2. Seleção de cultivares de Girassol tolerante a baixas concentrações de alumínio

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando as cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L) oriundas da Heliagro Science and Crops. As sementes foram germinadas em areia lavada e seis dias após a semeadura foram transplantadas duas plântulas por vaso de 500mL com 450mL de solução nutritiva simples. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com 4 cultivares (Helio 251, 253 e 360) e seis concentrações de alumínio (0, 10, 20, 40, 80 e 160µM) e com 4 repetições. O alumínio foi aplicado na forma de AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. Aos dez dias após o transplante para a solução as plântulas foram coletadas e avaliadas o comprimento da raiz principal e da parte aérea, elongação radicular relativa (ERR%), massa seca de raiz e parte aérea e a coloração com corante violeta de pirocatecol e hematoxilina da raiz principal para indicar a presença de alumínio (JACOB NETO, 1993, POLLE et AL, 1978).

Quadro 1: Análise química do solo Argissolo Amarelo

D 6 11 1			Cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>									%				
Profundidad e (cm)	pH <sub>águ</sub> a  1:2,5	Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	n	Corg	P	K	
0 -20	5,6	0,034	1,9	0,9	0.5	1,5	0,1			66	1,67	1	0,91	8	37	
20 -40	5,6	0,034	1,9	0,7	0.6	1,7	0,1			62	1,80	1	1,08	8	34	

### 3.1.3 Experimento 2. Teste de toxicidade de alumínio em cultivar de Café

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando a cultivar de café obtida do banco de germoplasma do Departamento de Fitotecnia da UFRuralRJ. As sementes foram germinadas em substrato composto de areia, esterco e solo argiloso na proporção de 1:2:1. Com quatro meses e apresentando 4 a 6 folhas definitivas, as plantas foram transplantadas uma plântula por vaso de 500mL com 450mL de solução nutritiva completa. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com a cultivar (Catuai amarelo), seis concentrações de alumínio (0, 80, 160, 320, 640 e 1280μM) e com 4 repetições. O alumínio foi aplicado na forma de AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O. Aos vinte dias após o transplante para a solução as plântulas foram coletadas e avaliadas o comprimento da raiz principal e da parte aérea, elongação radicular relativa (ERR%), massa seca de raiz e parte aérea, coloração da raiz principal e pH da solução.

#### 3.2 Seleção de Cultivares de Girassol a salinidade

#### 3.2.1 Experimento 3. Substrato de crescimento com altas concentrações salinas

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com três níveis de salinidade (0; 4,4 e 21,73 dS.m¹), duas cultivares (Helio 250 e 251) e com 4 repetições. Para obtenção destes níveis de salinidade, foram aplicados ao solo respectivamente, controle - sem adição de produtos, 75mM NaCl + 2 ton/ha⁻¹ de calcário e 600mM NaCl + 8 ton/ha⁻¹ de calcário.

### 3.2.2 Experimento 4. Substrato de crescimento com redução de 50% das concentrações salinas testadas no experimento 1

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com três níveis de salinidade (0; 2,34; 5,81; 13,53 e 22,8dS.m<sup>-1</sup>), duas cultivares (Helio 250 e 251) e com 4 repetições. Para obtenção destes níveis de salinidade, foram aplicados ao solo respectivamente, controle - sem adição de produtos, 75mM NaCl + 2 ton/ha<sup>-1</sup> de calcário, 150mM + 4 ton/ha<sup>-1</sup>), 300mM + 6 ton/ha<sup>-1</sup>de calcário e 600mM NaCl + 8 ton/ha<sup>-1</sup>de calcário.

## 3.2.3 Experimento 5. Substrato de crescimento com redução de 50% das concentrações as salinas testadas no experimento 2

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com três níveis de salinidade (0; 1,58; 1,85; 3,67; 4,99 e 8,99dS.m¹), duas cultivares (Helio 250 e 251) e com 4 repetições. Para obtenção destes níveis de salinidade, foram aplicados ao solo respectivamente, controle sem adição de produtos, 12.5, 25, 50, 75 e 100mM de NaCl.

# 3.2.4 Experimento 6. Avaliação de cultivares de girassol nas concentrações salinas pré-estabelecidas anteriormente nos experimentos 1, 2 e 3 para crescimento de girassol

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com três níveis de salinidade (0; 1,58; 1,85; 3,67; 4,99 e 8,99dS.m¹), quatro cultivares (Helio 250, 251, 253, e 360) e com 4 repetições. Para obtenção destes níveis de salinidade, foram aplicados ao solo respectivamente, controle - sem adição de produtos, 12.5, 25, 50, 75 e 100mM de NaCl.

# 3.2.5 Experimento 7. Avaliação de cultivares de girassol nas concentrações salinas pré-estabelecidas anteriormente nos experimentos 1,2 e 3 para crescimento de girassol – Novas cultivares

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops e EMBRAPA. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com seis níveis de salinidade (0; 1,58; 1,85; 3,67; 4,99 e 8,99dS.m¹), cinco cultivares (Helio 250, 251, 253, e 360 e Catissol 01) e com 4 repetições. Para obtenção destes níveis de salinidade, foram aplicados ao solo respectivamente, controle - sem adição de produtos, 12.5, 25, 50, 75 e 100mM de NaCl. Após a aplicação do NaCl e adubação com 0,12g de P na forma KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,15g de K na forma KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,15g de Mg na forma MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,0158g de Cu na forma CuSO<sub>4</sub>5H<sub>2</sub>O, 0,0089g de Zn na forma ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,0003g de B na forma H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,04g de Fe na forma FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e 0,04g de Mo na forma Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O.

# 3.2.6 Experimento 8. Avaliação de cultivares de girassol nas concentrações salinas pré-estabelecidas anteriormente nos experimentos 1,2 e 3 para crescimento de girassol – Diminuição de duas concentrações salinas

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops e EMBRAPA. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com seis níveis de salinidade (0; 1,58; 1,85; 3,67dS.m<sup>-1</sup>), cinco cultivares (Helio 250, 251, 253, e 360 e Catissol 01) e com 4 repetições. Para obtenção destes níveis de salinidade, foram aplicados ao solo respectivamente, controle - sem adição de produtos, 12.5, 25, 50mM de NaCl. Após a aplicação do NaCl e a adubação com 0,12g de P na forma KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,15g de K na forma KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,15g de Mg na forma MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,0158g de Cu na forma CuSO<sub>4</sub>5H<sub>2</sub>O, 0,0089g de Zn na forma ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,0003g de B na forma H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 0,04g de Fe na forma FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e 0,04g de Mo na forma Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O,

- 3.3 Liberação OH<sup>-</sup> e H<sup>+</sup> na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio e de salinidade em plântulas
- 3.3.1 Experimento 9. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio em plântulas de girassol

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivar de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com uma cultivar de girassol (Helio 360), três fontes de nitrogênio (sem N, KNO<sub>3</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), quatro concentrações de alumínio (0, 1500, 3000 e 6000kg/ha) e quatro repetições. Para obtenção destes níveis de acidez, foram aplicados ao solo respectivamente, controle - sem adição de produtos, 0.75, 1.5 e 3.0 g/kg de alumínio na forma Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> no solo. A aplicação das fontes de nitrogênio na concentração de 200kg/ha e na proporção para 1kg de solo, foi realizada aos 0, 5, 10, 15 e 20 dias após a germinação. Aos quatro e dez dias após da semeadura foi avaliado a germinação e aos trinta dias foram realizadas as avaliações de pH e condutividade elétrica de solo e rizosfera, massa seca de raiz e parte aérea.

# 3.3.2 Experimento 10. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio em plântulas de abacaxi

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando mudas de abacaxi (*Ananas comosus* L), obtidas de material genético do Setor de Horticultura do Departamento de Fitotecnia da UFRuralRJ. Foram transplantadas uma planta por vasos com capacidade para 500mL e com 450mL de solução nutritiva completa adaptada por Jacob Neto 1993, que

teve o pH inicial ajustado para 4,5 ± 0,05 com uso de 0,1M de HCl e 0,1M de NaOH, sendo trocada em intervalos de 48hs e aerada diariamente. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com uma cultivar abacaxi (Perola - mudas tipo filhote), com três fontes de nitrogênio (NO<sub>3</sub>-NH<sub>4</sub>+, KNO<sub>3</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), três concentrações das fontes de nitrogênio (0, 2 e 4mM ), cinco concentrações de alumínio (0, 75, 150, 300 e 600μM na forma AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) e quatro repetições. Após a transferência das mudas para a solução nutritiva foi avaliado comprimento radicular, comprimento radicular total, número de raízes formadas (contagem das novas raízes que surgiam no caule), massa seca de raiz e o pH da solução nutritiva e a coloração das raízes com corante violeta de pirocatecol e hematoxilina. O comprimento radicular foi obtido, medindo o comprimento total das raízes formadas e dividindo este valor pelo número total de raízes formadas, a avaliação do pH da solução nutritiva foram realizadas com intervalos de 5 dias.

# 3.3.3 Experimento 11. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade por de salinidade em plântulas de girassol

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com uma cultivar de girassol (Helio 360), três fontes de nitrogênio (sem N, KNO<sub>3</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), quatro níveis de salinidade (0, 750, 1450 e 2890μS.dm³) e quatro repetições. Para obtenção destes níveis de salinidade, foram aplicados ao solo respectivamente, controle - sem adição de produtos, 12,5mM NaCl + 2 ton/ha⁻¹ de calcário, 25mM NaCl + 4 ton/ha⁻¹ e 50mM NaCl+ 6 ton/ha⁻¹ de calcário. A aplicação das fontes de nitrogênio na concentração de 200kg/ha e na proporção para 1kg de solo, foi realizada aos 0, 5, 10, 15 e 20 dias após a germinação. Aos quatro e dez dias após da semeadura foi avaliado a germinação e aos trinta dias foram realizadas as avaliações de pH e condutividade elétrica de solo e rizosfera, comprimento de raiz e parte aérea, número de folhas, massa seca de raiz e parte aérea.

# 3.4 Efeito da Liberação OH<sup>-</sup> e H<sup>+</sup> na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento na associação entre o *Trichoderma* sp e a raiz

## 3.4.1 Experimento 12. Crescimento do fungo Trichoderma em meio de cultura com diferentes pH(s)

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando a espécie de fungo *Trichoderma* sp utilizada foi obtida do produto comercial Trichobio Agrobio (PESAGRO RIO)com densidade de 1,1g/mL. O crescimento do fungo foi realizado em placa de petri contento como substrato o meio de cultivo BDA, que foi preparado utilizando 1kg de batata

crua ralada, 18g de Agar em pó e 20g de sacarose. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com cinco níveis de pH (3, 4, 5, 6 e 7), uma concentrações de fungo *Trichoderma* (1mL) e oito repetições. Para obtenção dos níveis de pH o meio de cultura BDA foi ajustado utilizando a solução 0.1mM de HCL e NaOH. As avaliações do crescimento do fungo iniciaram 24hs após a inoculação do meio de cultivo e foram realizadas em intervalos de 24horas ate completar 10 dias. Para avaliar o crescimento na placa, foram utilizadas as notas 0 para as placas sem fungo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 como valores intermediários de colonização e 10 para as placas completamente colonizadas.

## 3.4.2 Experimento 13. Efeito do fungo Trichoderma e fontes de nitrogênio no substrato de crescimento de plântulas de Maracujá

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando plantas de maracujá amarelo (Passiflora edulis f flavicarpa Deg) cv (FB 200 - Yellow Máster). A espécie de fungo Trichoderma utilizada foi obtida do produto comercial Trichobio Agrobio com densidade de 1,1g/mL. As sementes de maracujá foram germinadas em substrato comercial e após o período de 30 dias foram transplantadas uma planta para tubos de ensaio de 70mL com 50mL de solução nutritiva completa adaptada por Jacob Neto (1993), que teve o pH inicial ajustado para  $5.5 \pm 0.05$  com uso de 0.1M de HCl e 0.1M de NaOH, sendo aerada diariamente. Para avaliação do tempo de infecção do fungo Trichoderma foram realizados quatro tratamentos: controle - sem adição de Trichoderma e N, 1mL de Trichobio + 0,5mM de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 1mL de Trichobio + 0,5mM de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1mL de Trichobio + 0,5mM de KNO<sub>3</sub>., com 4 repetições. Aos 5 dias após o transplantio foram avaliados: pH da solução nutritiva e porcentagem de infecção nas raízes. Desta maneira, foram colocados pedaços de raiz em placa de petri com substrato BDA que foram anteriormente mergulhadas por um minuto em álcool 70%, depois por dois minutos em hipoclorito de sódio 1% sendo posteriormente lavadas em água deionizada e após 4 dias verificou o crescimento do fungo nas placas.

## 3.4.3 Experimento 14. Efeito do fungo Trichoderma e fontes de nitrogênio no substrato de crescimento de plântulas de Maracujá – 30 dias de contato

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando plantas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f *flavicarpa Deg*). A espécie de fungo *Trichoderma spp*. utilizada foi obtida do produto comercial Trichobio Agrobio com densidade de 1,1g/mL. As sementes foram germinadas em substrato comercial e após o período de 30 dias foram transplantadas uma planta para vasos de 770 mL com 1 kg de areia lavada e esterilizada, e nesta foi aplicado para fornecer todos os nutrientes (menos nitrogênio) uma solução nutritiva completa adaptada por Jacob Neto 1993, que teve o pH inicial ajustado para 6,0 ± 0,05 com uso de 0,1M de HCl e 0,1M de NaOH. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com três fontes de nitrogênio (Sem N, KNO<sub>3</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1 concentrações de nitrogênio (0.5mM), 3 concentrações de fungo *Trichoderma* (0, 10 e 30mL), uma cultivar de maracujá (FB 200 -Yellow Máster) e quatro repetições. A aplicação

das fontes de nitrogênio nos vasos foi realizada em intervalos de 48hs para manter o pH da rizosfera. Aos 30 dias após o transplantio foram avaliados: massa seca de raiz e parte aérea, pH da rizosfera, composição nutricional e porcentagem de infecção. Para avaliar a presença do fungo nas raízes, foram colocados quatro pedaços de raiz em placa de petri com substrato BDA que anteriormente foram mergulhadas por um minuto em álcool 70%, depois por dois minutos em hipoclorito de sódio 1% sendo posteriormente lavadas em água deionizada. A avaliação do crescimento do fungo no meio foi realizada após cinco dias.

# 3.5 Liberação OH- e H+ na rizosfera, utilizando nitrato e amônio, aplicado via foliar, alteraria a toxicidade de alumínio e de NaCl em plântulas

## 3.5.1 Experimento 15. Efeito da aplicação foliar de fontes de nitrogênio no pH da rizosfera de plântulas de café

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando a cultivar de café Catuaí Amarelo IAC 44 (Coffea arabica L.) obtida do banco de germoplasma do Departamento de Fitotecnia da UFRuralRJ. As sementes foram germinadas em substrato composto de areia, esterco e solo argiloso na proporção de 1:2:1, com quatro meses e apresentando 4 a 6 folhas definitivas foram transplantadas uma plântula por vaso de 500mL com 450mL de solução nutritiva completa sem adição de nitrogênio. O pH inicial da solução foi ajustado para 6.0 ± 0,05 com adição da solução de 0,1 M de NaOH e 0,1 M HCl. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com duas fontes de nitrogênio (KNO<sub>3</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.SO<sub>4</sub>), três concentrações das fontes de nitrogênio (0, 5 e 10%) e nove repetições. As aplicações foliares das fontes de nitrogênio foram realizadas 1 e 48hs após a transferência das plantas para a solução. E para que ocorresse o completo umedecimento das folhas, foram aplicados aproximadamente 2,5mL da solução de nitrogênio e evitando-se o escorrimento e o jato de aplicação foi direcionado para a parte superior das folhas e os vasos foram protegidos com papel toalha para evitar a contaminação da solução de crescimento. As avaliações do pH da solução (foram feitas utilizando Peagâmetro digital modelo HandyLab 1 SCHOTT) e estádio visual das folhas foram realizadas às 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 horas após a primeira aplicação foliar.

## 3.5.2. Experimento 16. Efeito da aplicação foliar de fontes de nitrogênio através da embebição das folhas em solução de nitrogênio, no pH da rizosfera de plântulas de café.

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando a cultivar de café Catuaí Amarelo IAC 44 (*Coffea arabica* L) obtida do banco de germoplasma do Departamento de Fitotecnia da UFRuralRJ. As sementes foram germinadas em areia lavada e 30 dias após a germinação e com apenas folhas cotiledonares (estádio orelha de onça) foram transplantadas uma plântula para caixa tipo gerbox com capacidade para 400mL e com 250mL de solução nutritiva completa adaptada por Jacob Neto 1993 sem adição de nitrogênio. A solução foi trocada a cada 48hs, a aeração foi constante e o pH inicial foi ajustado para 4.5 ± 0,05 com adição da solução de 0,1 M de NaOH e 0,1 M HCl. Antes da transferência para a solução nutritiva foi avaliado o comprimento e diâmetro do ápice da raiz

principal e número de folhas das plântulas de café. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com duas fontes de nitrogênio (KNO<sub>3</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), três concentrações das fontes de nitrogênio (0, 5 e 10%) e quatro repetições. Para o fornecimento foliar de nitrogênio, parte da folha da plântula foi mergulhada parcialmente na solução de nitrogênio em um recipiente com capacidade para 250ml de solução. Após a transferência das plântulas para a solução nutritiva foi avaliado o pH da solução (1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100hs) e coloração das raízes com corante violeta de pirocatecol e hematoxilina.

### 3.5.3 Experimento 17. Aplicação foliar de nitrogênio visando a redução da toxidez por Alumínio em plântulas de Café

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando a cultivar de café Catuaí Amarelo IAC 44 (Coffea arabica L) obtida do banco de germoplasma do Departamento de Fitotecnia da UFRuralRJ. As sementes foram germinadas em areia lavada e 30 dias após a germinação e com apenas folhas cotiledonares (estádio orelha de onça) foram transplantadas uma plântula para tubos de ensaio de 70mL com 50mL de solução nutritiva completa adaptada por Jacob Neto (1993) sem adição de nitrogênio. A solução foi trocada a cada 48hs, a aeração foi constante e o pH inicial foi ajustado para  $4.5 \pm 0.05$  com adição da solução de 0,1 M de NaOH e 0,1 M HCl. Antes da transferência para a solução nutritiva foi avaliado o comprimento e diâmetro do ápice da raiz principal e número de folhas das plântulas de café. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com duas fontes de nitrogênio (KNO3 e (NH4)2SO4), três concentrações das fontes de nitrogênio (0,5 e 10%), quatro concentrações de alumínio (0, 250, 500 e 2000µM na forma AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) e quatro repetições. As aplicações foliares das fontes de nitrogênio foram realizadas 1 e 48hs após a transferência das plantas para a solução. E para que ocorresse o completo umedecimento das folhas, foram aplicados aproximadamente 2,5mL da solução de nitrogênio e evitando-se o escorrimento e o jato de aplicação foi direcionado para a parte superior das folhas e os tubos de ensaio foram protegidos com papel toalha para evitar a contaminação da solução de crescimento. Após a transferência das plântulas para a solução nutritiva foi avaliado o comprimento e diâmetro do ápice da raiz principal, número de folhas das plântulas, estádio visual das folhas, pH da solução e coloração das raízes com corante violeta de pirocatecol e hematoxilina. As avaliações do pH da solução foram realizadas às 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas após a primeira aplicação foliar.

# 3.5.4 Experimento 18. Aplicação foliar de nitrogênio visando à redução da toxidez de alumínio em plântulas de girassol

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.) oriundo da Heliagro Science and Crops. Foram plantadas cinco sementes diretamente no vaso de 770mL, sendo deixando após a germinação apenas duas plântulas no recipiente com 1kg de solo. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com duas cultivares de girassol (Helio 250 e Helio 253), uma fonte de nitrogênio (KNO<sub>3</sub>), duas concentrações da fonte de nitrogênio (0 e 10%), três concentrações de alumínio (0, 1500 e 4500 kg/ha na forma Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>) e quatro repetições.

Para obtenção destes níveis de acidez, foram aplicados ao solo respectivamente, controle sem adição de produtos, 0,75 e 2,25g/kg alumínio na forma Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> no solo. A aplicação foliar de nitrogênio foi realizada aos 4, 8, 12 e 16 dias após a germinação e aos 16 dias também foi aplicado nitrogênio no solo na proporção de 40kg/há. Aos quatro e dez dias após da semeadura foi avaliado a germinação, e aos trinta dias foram realizadas as avaliações de pH de solo e rizosfera, comprimento de raiz e parte aérea, número de folhas, massa seca de raiz e parte aérea e avaliação da coloração das raízes com uso do corante violeta de pirocatecol e hematoxilina.

# 3.5.5 Experimento 19. Aplicação foliar, via submersão das folhas em nitrogênio visando a redução da toxidez por alumínio em mudas de Sombreiro

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando plantas de sombreiro (*Clitorea racemosa*), adquiridas do viveiro do Instituto de Florestas da UFRuralRJ. Foi utilizado uma muda em cada vaso, que foram crescidas em sacos de polietileno com 1kg de substrato composto por argila, areia e esterco na proporção 2:1:2. O delineamento experimental usado foi do de inteiramente casualizado com uma fonte de nitrogênio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.SO<sub>4</sub>), duas concentrações de nitrogênio (0 e 10%), 2 concentrações de alumínio (0 e 500mM na forma AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O), com duas repetições. As mudas utilizadas apresentavam um metro de altura na parte aérea, e antes do início do testes foi realizado uma poda na parte aérea padronizando todas as plantas com 50cm de altura. O nitrogênio e o alumínio foram fornecidos por meio solução simples para uma folha localizada na parte mediana da planta. A folha foi mergulhada completamente em 200mL da solução, que foi acondicionada em sacos de polietileno transparente medindo 15 X 30cm que estavam apoiadas em placas de isopor e mantidas na posição horizontal. Foram avaliados após 24hs do inicio do experimento, o desenvolvimento das gemas laterais, o estádio visual das folhas. Ao final do experimento foi avaliado o comprimento, peso e o número de brotações.

# 3.5.6 Experimento 20. Aplicação foliar via submersão das folhas em nitrogênio visando à redução da toxidez por alumínio em mudas de Amendoeira

O experimento foi realizado em câmara de crescimento, utilizando plântulas de amendoeira (*Terminalia catappa*L) obtida de uma planta localizada no campus Seropédica da UFRuralRJ. As sementes foram germinadas em areia lavada e 20 dias após a germinação e com apenas folhas cotiledonares foram transplantadas uma plântula para caixa tipo gerbox com capacidade para 400mL e com 250mL de solução nutritiva completa adaptada por Jacob Neto (1993) sem adição de nitrogênio. A solução foi trocada a cada 48hs, a aeração foi constante e o pH inicial foi ajustado para 4.5 ± 0,05 com adição da solução de 0,1 M de NaOH e 0,1 M HCl. Antes da transferência para a solução nutritiva foi avaliado o comprimento e diâmetro do ápice da raiz principal e número de folhas das plântulas de café. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado com duas fontes de nitrogênio (KNO<sub>3</sub> e (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), uma concentração de nitrogênio (5%), quatro concentrações de alumínio (0, 300, 600 e 1200μM na forma AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) e quatro repetições. Para o fornecimento foliar de nitrogênio, parte da folha da plântula foi mergulhada parcialmente na

solução de nitrogênio em um recipiente com capacidade para 250ml de solução durante a duração do experimento. Após a transferência das plântulas para a solução nutritiva foi avaliado o pH da solução (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 84hs) e a coloração das raízes com corante violeta de pirocatecol e hematoxilina.

#### 3.6 Metodologias utilizadas para avaliação dos experimentos

## 3.6.1 Local de realização dos experimentos, e metodologia de coleta, acidificação e salinização do solo utilizado nos experimentos

Os experimentos foram realizados em câmara de crescimento Laboratório de Química da Rizosfera da UFRuralRJ, com temperatura controlada, sendo em media, a diurna de 27° C e a noturna de 18° C. A luminosidade media de 400 Lux, foi obtida utilizando luz incandescente de 150W e fluorescente de100W, com comprimento do dia de 12 horas.

O solo utilizado foi o do tipo Argissolo Amarelo (Ramos et al., 1973) localizado no Setor de Bovinocultura da UFRRJ coletado na camada de 20 a 40cm, a camada de 0 a 20cm foi descartada. Depois de coletado, foi passado em uma peneira de 2,50 mm mesch.

Com objetivo de salinizar, acidificar ou aumentar o pH, foi realizada a adição de NaCl (P.A), alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) ou calcário respectivamente nos solos, tomando por base 2000ton de solo por hectare e uma camada 20cm, sendo transformado para um quilograma. Após a aplicação do NaCl (P.A), alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) ou calcário, o substrato(solo) foi saturado com água até a capacidade de campo e deixado por 10 dias para que ocorresse o processo de salinização.

Posteriormente foi realizada neste substrato a avaliação da condutividade elétrica e pH em água, segundo a metodologia descrita em EMBRAPA (1997), sendo em seguida realizado o plantio das sementes, quando foi utilizado girassol. Também não foi realizada a adubação mineral do solo com outros nutrientes, sua análise química encontra-se no Quadro 1. Aos quatro e dez dias após da semeadura foi avaliado a germinação, comprimento radicular e de parte aérea, massa seca de raiz e de parte aérea das plântulas.

#### 3.6.2 Parâmetros Avaliados

Quando referenciado nos experimentos as avaliações foram realizadas seguindo a metodologia descrita.

- A) Comprimento da haste principal (CHP) da plântula: medição do caule da plântula com régua graduada em centímetro a partir do colo;
- B) Taxa de crescimento radicular (TCR), realizada através da equação:

Sendo:

TCR = Avaliação da medição do dia da coleta (Cf) menos a avaliação da medição do dia anterior a coleta (Cf -1).

Cf. – comprimento radicular final; Ci - comprimento radicular inicial

- C) Caracterização do estádio visual das folhas, realizada diariamente avaliando as características morfológicas surgidas nas folhas após o inicio do tratamento em solução nutritiva contendo Al.
- D) Diâmetro do colo: medição do colo das plântulas, com uso de paquímetro digital.
- -E) Diâmetro do ápice da raiz: realizado atravez da medição do ápice da raiz principal, com uso de paquímetro digital
- F) Elongação radicular relativa: (ERR%) calculada de acordo com a equação proposta por Vasconcelos et al, (2002).

ERR = 
$$(Cf_{Alx} - Ci_{Alx})$$
 x 100 (  $Cf_{Al0} - Ci_{Al0}$ )

#### Onde:

- ERR: elongação radicular relativa
- Ci<sub>Alx</sub>: comprimento radicular inicial da raiz principal (cm) medido antes da exposição à solução nutritiva no nível de "x" de Al;
- $Cf_{Alx}$ : comprimento radicular final da raiz principal (cm) medido após n dias de exposição à solução nutritiva no nivel " x " de Al;
- Ci<sub>Al0</sub>: Comprimento radicular inicial da raiz principal (cm) antes da exposição à solução sem Al:
- •Cf<sub>Al0</sub>: Comprimento radicular final da raiz principal (cm) medido após n dias de exposição à solução nutritiva no nivel " x " de Al;
- G) pH da solução nutritiva: foi utilizado o Peagâmetro digital modelo HandyLab 1 SCHOTT.

### 3.6.3 Procedimento para verificar a presença de Al na rizosfera com uso de corantes

Para avaliar a tolerância ao alumínio foi utilizado na coloração das raízes das plântulas os corantes químicos violeta de pirocatecol (PVC – 1) (Jacob-Neto, 1993) e hematoxilina (Polle et al., 1978). A solução estoque de violeta de pirocatecol foi preparada com a concentração de 1,1 mM. L <sup>-1</sup>. A solução estoque de hematoxilina foi preparada pela dissolução de 2 g de hematoxilina e 0,2 g de KNO<sub>3</sub> em 1 L de água deionizada , alem de uma gota de KOH 0,1 mol.L<sup>-1</sup> para facilitar a dissolução do corante. As soluções para coloração das raízes das plântulas foram preparadas pela diluição de 5ml da solução estoque de hematoxilina em 20mL de água deionizada e 1mL da solução estoque de violeta de pirocatecol em 24 mL de água deionizada.

Antes da coloração visual foi realizado a medição do comprimento final das raízes. Para avaliar a coloração, as raízes das plântulas foram colocadas em água deionizada por 30 minutos para retirar o excesso de alumínio e depois colocadas por 15 minutos na solução do corante. A avaliação da coloração ocorreu 20 minutos após a retirada da mesma, onde as

plântulas foram colocadas sobre papel branco a temperatura ambiente e a cada avaliação eram novamente colocadas na solução para não ocorrer a desidratação das raízes. A avaliação da coloração foi realizada por analise visual da tonalidade de azul que foi realizada através de notas que variaram de 1 a 5 sendo 1 raízes sem cor e 5 o tom de azul mais intenso entre as raízes e as notas 2, 3 e 4 as intensidades medianas de azul. As notas foram obtidas através da média de cinco avaliadores não treinados. As raízes das plântulas são muito finas e com isto dificulta a avaliação da tonalidade do ápice da raiz principal então nas avaliações da coloração foi observado o tom de cor que apresentava todo o sistema radicular e não só o ápice.

### 3.6.4 Metodologia utilizada para avaliação das concentrações de cálcio, fósforo, potássio, magnésio, sódio e alumínio

Foi realizada para determinação dos macronutrientes (P, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>), do sódio (Na<sup>+</sup>) e (Al<sup>+3</sup>). Para tanto, toma-se 0,250 g de tecido vegetal em tubo de teflon de 75 ml, adiciona-se 9 ml de HNO<sub>3</sub>, e após vedado, o tubo é submetido a aquecimento por microondas. O digestor utilizado foi da marca MARS XPRESS<sup>®</sup>, programado de acordo com o método 3052A (USEPA, 1996) para potência de 1600 W, atingindo 180 °C em 5,5 minutos, permanecendo nesta temperatura por mais 9,5 minutos. Após digerida, a amostra foi diluída à 50 ml com água mili-Q<sup>®</sup>, sendo realizadas as leituras de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> por fotometria de chormo, Al<sup>+3</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup> por espectrofotometria de absorção atômica e o P por colorimetria do metavanadato (MALAVOLTA et al., 1997).

### 3.7 Soluções utilizadas

### 3.7.1 Preparação de solução estoque de alumínio

A solução estoque de alumínio foi preparada com 10 mM de Al na forma  $AlCl_3.6H_2O$  diluído em 1 litro de água deionizada e depois mantida em geladeira. Na água deionizada utilizada foi colocado 1mL de solução de 1 M de HCl para manter o pH abaixo de 4,0 para o Al adicionado ficar disponível em solução.

#### 3.7.2 Solução nutritivas simples

Preparada de acordo com metodologia proposta por Jacob Neto (1993). Composta de 0,1mM de Ca. L<sup>-1</sup> (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O), as concentrações de alumínio, foram obtidas a partir de solução estoque de 10mM Al (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O). O pH da solução foi ajustado para 4.0 a 4,15 com uso de solução de 1 M da HCl e 0,1 M de KOH.

### 3.7.3 Solução nutritiva completa - Preparada com cargas equivalentes

Preparada de acordo com metodologia proposta por Jacob Neto (1993), composta por 0,5mM de N forma NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; 0,2mM de Ca forma CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,2mM de Mg forma MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,5mM de K forma K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,1mM de P forma NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 10 $\mu$ M de Fe forma FeNa EDTA; 0,4 $\mu$ M de Mn forma MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,16 $\mu$ M de Zn forma ZnSO<sub>4</sub>; 0,04 $\mu$ M

de Cu forma CuSO<sub>4</sub>; 0,5µM de Mo forma MoO<sub>3</sub>; 0,04µM de Co forma CoSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O. O pH da solução foi ajustado para 4,0 a 4,15 com uso de solução de 1 M da HCl e 0,1 M de KOH.

#### 3.8 Analise estatística

Nos experimentos realizados neste trabalho, por serem todos realizados em delineamento experimental inteiramente casualizados, quando não ocorreu interação significativa na análise de variância ( $P \le 0,05$ ) dos parâmetros testados, os efeitos foram isolados e as comparações das médias foram realizadas utilizando o Teste Tukey  $\le 0,05$ . Quando a análise de variância do experimento mostrou interação significativa da interação ( $P \le 0,05$ ), foi realizado o desdobramento das interações e as médias comparadas pelo teste Tukey  $\le 0,05$ .

#### **4 RESULTADOS**

#### 4.1 Avaliação da tolerância de alumínio em plantas

## **4.1.1** Experimento **1.1.** Seleção de cultivares de Girassol tolerante ao alumínio – Altas concentrações

O experimento 1, (Tabela 1) que foi instalado com plântulas de Girassol crescidas em areia lavada, sendo depois transplantadas para uma solução nutritiva simples, ocorreu efeito de cultivares e de dosagens de alumínio para o comprimento radicular e massas de raiz e parte aérea secas. A interação entre os parâmetros foi significativa somente quando foi avaliado a parte aérea. O objetivo principal foi selecionar cultivares tolerantes ao alumínio, crescidas em diferentes doses, por esta razão foi utilizado este delineamento experimental.

No desdobramento da análise de variância (Tabela 1) foi observado que as concentrações de alumínio adicionadas na solução nutritiva só influenciaram a massa da parte aérea nas cultivares 253 e 360 e os efeitos do alumínio só foram encontrados nas dosagens mais elevadas de 1280 e 2560, doses que podem ser consideradas muito elevadas para espécies anuais com o Girassol. Esta redução de acúmulo de massa da parte aérea seca ocorrida neste experimento pode ser associada a doses de alumínio, relacionando a problemas de absorção de outros nutrientes pelas raízes. De maneira geral os maiores valores do comprimento radicular, massa seca de raiz e parte aérea foram encontrados quando não foi adicionado alumínio, significando que todas as cultivares foram sensíveis as doses de alumínio.

Neste experimento e ao longo de todo o trabalho o comprimento radicular da raiz principal foi considerado o parâmetro mais importante no processo de seleção de cultivares tolerantes ao alumínio, e neste estudo foi escolhido como diferenciador no processo de seleção de cultivares.

Na Tabela 2, são mostrados os dados dos efeitos significativos de cultivares e concentração de alumínio dos parâmetros comprimento radicular e massa seca de raiz. O maior comprimento da raiz principal foi encontrado na cultivar Hélio 253, que diferiu estatisticamente de todas as outras cultivares, e estas não foram diferentes entre si. O comprimento radicular, quando são realizadas comparações entre cultivares, pode não indicar a verdadeira tolerância de uma cultivar ao alumínio, pois estas comparações não levam em consideração o comprimento inicial da raiz antes de serem colocadas em contato direto com a solução nutritiva contendo alumínio. O mais correto nessas comparações, seria a utilização da elongação radicular relativa (ERR%), que leva em consideração o comprimento da raiz principal das plântulas crescidas em alumínio e desconta e divide pelo comprimento das plântulas crescidas sem alumínio, descontando o efeito da condição ideal.

Utilizando a elongação radicular relativa (Figura 1) pode ser observado que todas as cultivares tem uma curva de elongação com o mesmo comportamento característico de plantas sensíveis ao alumínio. Ficou evidenciado entretanto, que desde a concentração de 160µM de alumínio na solução, todas cultivares já não aumentaram o comprimento da raiz principal, indicando que o nível de toxidez de alumínio para este grupo de cultivar, encontrase em concentrações menores do que 160µM de alumínio na solução.

Tabela 1: Comprimento radicular em cm, massa de raiz e parte aérea secas (mg planta<sup>-1</sup>) de plantas de girassol (*Helianthus annus* L) cultivares Helio crescidas com diferentes concentrações de alumínio. Avaliação realizada 10 dias após transferência para a solução nutritiva. **Experimento 1.** 

						Cu	ıltivares H	elio						
Conc. Al (µM)	250	251	253	360	250	251	253	360	250	251	253	360		
	C	Comp. Rad	licular (cn	n)	N	Iassa da ra	iz seca (mg	<u>(</u> )	Massa da parte aérea seca (mg)					
0	12,93	18,00	19,73	15,93	17,25	22,75	26,75	29,00	37,00Ab	54,70Aa	52,50Aa	61,25Aa		
160	9,58	11,53	14,13	9,55	13,50	19,75	19,50	20,00	40,25Aa	44,50Aa	36,25Ba	37,75Ba		
320	11,28	9,53	15,10	11,10	16,50	17,00	17,50	22,25	33,75Aa	41,75Aa	40,75ABa	39,50Ba		
640	9,73	11,18	13,78	10,00	13,75	18,00	15,00	16,00	35,75Aa	47,50Aa	35,25Ba	41,75Ba		
1280	9,43	10,48	14,48	11,33	14,50	15,00	13,25	18,50	32,50Ab	46,75Aa	47,75ABa	41,75Bab		
2560	10,65	10,28	13,73	9,83	13,50	14,25	16,50	16,50	31,00Aa	43,50Aa	42,00ABa	34,50Ba		
CV (%)		17	,32			29,	68			16	5,75			
Pr≥ F														
Cult		0,00	0001			0,00	626		0,00001					
Conc. Al		0,00	0001			0,00	007		0,00001					
Cult X Conc. Al.		n	s*			n	s			$0,0_{-}$	4027			

ns\*- não significativo estatisticamente

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey.

Esta foi a razão da instalação do Experimento 2, discutido abaixo, onde foram testadas concentrações menores de alumínio em solução.

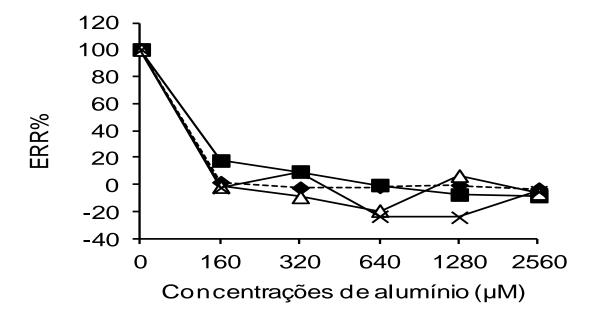
Ainda avaliando os resultados da Tabela 2, nesta podem ser observados que para massa da raiz seca, não ocorreu diferença entre as cultivares Hélio 360, 253 e 251, como também entre as cultivares Helio 250, 251 e 253, somente ocorreu diferenças significativamente estatisticamente entre as cultivares Helio 360 e Helio 250. Para os efeitos de concentração, as plântulas sem alumínio apresentaram a maior massa seca de raiz, e nas demais concentrações não ocorreram diferença. Foi observado que a partir de 160µM já inicia a redução do acumulo de massa, indicando sensibilidade das cultivares, já que nestas condições o crescimento a absorção de nutrientes é reduzida, afetando diretamente o ganho de massa nas raízes.

Desta forma, para tolerância ao alumínio nas condições testadas, a cultivar Helio 253 foi considerada a mais tolerante pois alcançou maior comprimento radicular (Tabela 2) apresentou as melhores taxas de ERR% (Figura 1). A cultivar Helio 251 e 360 foram consideradas medianamente tolerantes e a cultivar Helio 250 a mais sensível ao alumínio.

Tabela 2: Comprimento radicular final, massa seca de raiz e massa seca de parte aérea por planta e análise estatística geral (**Pr≥F**) das variáveis avaliadas em plantas de girassol (*Helianthus annus* L) cultivares Helio, crescidas por dez dias em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O). **Experimento 1**.

			Culti	vares							
	250		251	253		360					
Comp. da raiz principal (cm)	10,59 b		11,82 b	15,15 a	ı	11,28 b					
	Concentrações de alumínio (μM)										
	0	160	320	640	1280	2560					
	16,64 a	11,19 b	11,75 b	11,16 b	11,42 b	11,12 t					
	Cultivares										
	250		251	253		360					
Massa seca de raiz (mg/planta)	14,83 b		17,79 ab	18,08 al	b	20,37 a					
(mg/pianta)		Co	oncentrações d	e alumínio ( <sub>I</sub>	ιM)						
	0	160	320	640	1280	2560					
	23,93 a	18,18 b	18,31 b	15,68 b	15,31 b	15,181					

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5%.



### **4.1.2** Experimento 1.2 Seleção de cultivares de Girassol tolerante ao alumínio - Baixas concentrações.

A análise de variância do experimento 2 (Tabela 3) quando foram testadas somente as cultivares Hélio 251, 253 e 360 nas concentrações de alumínio menores do que 160μM mostrou que só ocorreu efeito de cultivar, não ocorrendo efeito significativo estatisticamente da concentração de alumínio e nem da interação entre cultivar e concentrações de alumínio para o comprimento radicular. Os dados de massa de raiz e parte aérea seca, não foram plotadas. Analisando os dados isoladamente (Tabela 4) o maior comprimento radicular foi encontrado nas cultivares Hélio 251 e 253, sendo a cultivar Hélio 360 a mais afetada. De certa forma era esperado que fosse encontrada diferenças entre as dosagens de alumínio testadas, mas o que ocorreu foi só o efeito da manifestação genética das cultivares, todas foram afetadas pelas concentrações de alumínio. Quando foi utilizada a elongação radicular relativa (Figura 2) pode ser demonstradas que baixas doses de alumínio até estimularam o crescimento radicular. Entretanto, acima de 20μM o comprimento começou a diminuir. Baseados nestes dados do comprimento radicular foram selecionados como tolerantes as cultivares Hélio 251 e 253 e mais sensível a cultivar Hélio 360.

Tabela 3: Comprimento radicular (cm)de plantas de girassol (*Helianthus annus* L) cultivares Helio crescidas com diferentes doses de alumínio. Avaliação realizada 10 dias após transferência para a solução nutritiva. **Experimento 1**.

		Cultivares Helio	ı							
Conc. Al (µM)	251	360								
	Comp. Radicular (cm)									
0	14,60	12,93	12,18							
10	14,50	18,63	14,13							
20	18,45	17,03	12,08							
40	15,63	16,25	9,65							
80	14,58	13,95	11,60							
160	17,08	11,80	11,65							
CV (%)		25.52								
Pr≥ F										
Cult		0,00096								
Conc. Al		ns*								
Cult X Conc. Al.		ns								

ns\*- não significativo estatisticamente

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey.

Tabela 4: Efeito isolado do comprimento radicular final por planta e análise estatística geral (**Pr≥F**) das variáveis avaliadas em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L) cultivares Helio, crescidas por dez dias em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O). **Experimento 1**.

~	Cultivares								
Comp. da raiz principal (cm) –	251	253	360						
principal (cili)	15.80 a	15.09 a	11.87 b						

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5%.

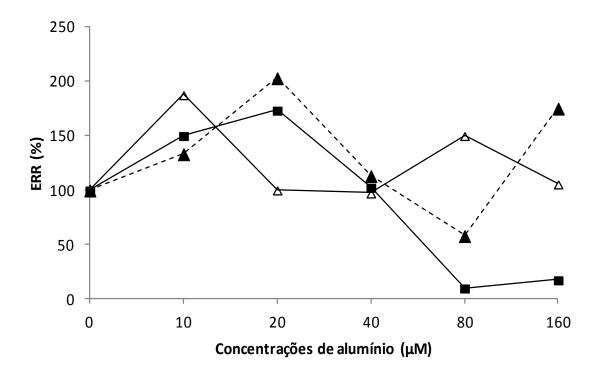


Figura 2: Elongação radicular relativa (ERR%) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L) cv. Helio 251 (···◆···), 253 (──● ) e 360 (──● ) crescidas por 20 dias em solução nutritiva simples com diferentes concentrações de alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O). **Experimento 1**.

#### 4.1.3 Experimento 2. Teste de toxicidade de alumínio em cultivar de Café

No experimento 2, em que foi testada a toxicidade de alumínio na cultivar de café Catuai Amarelo IAC-44 (Tabela 5).Os resultados mostraram que as plantas nesta fase de crescimento (45 dias após semeadura), mais 20 dias após a transferência para a solução nutritiva completa (baixa força iônica), não sofreram efeito pronunciado da toxidez de alumínio. Entretanto, quando foi utilizada equação da elongação radicular relativa (Figura 3) fica demonstrado que a partir da concentração de  $80\mu M$  ocorreu queda do crescimento radicular, demonstrando a sua susceptibilidade ao alumínio. Estudos realizados por Braccini et al , 1998, avaliaram esta cultivar como sendo considerada, medianamente tolerante, o que de certa forma concorda com os nossos dados, visto que não ocorreu diferenças significativas estatisticamente na avaliação do comprimento radicular.

#### 4.2 Seleção de Cultivares de Girassol à salinidade

Nos experimentos 3, 4, 5 e 6, provavelmente devido as altas concentrações de NaCl utilizadas para salinizar o solo, as sementes de Girassol não germinaram (dados não tabelados). No experimento 5 e 6 já foram utilizadas concentrações menores, mas mesmo

assim não ocorreu germinação, indicado que outros fatores podem ter contribuído para estes resultados. Só a partir do experimento 7 e 8 é que foi encontrado o nível de concentração salina possível de se obter plântulas com uniformidade, para o estudo. Deve-se também ressaltar que a adição de calcário na faixa de 2000 a 8000 Kg ha <sup>-1</sup> de solo (utilizados nos experimentos 3 e 4) não alterou de forma significativa a condutividade elétrica da solução do solo como pode ser visto na Figura 4, dando a impressão que nestas condições de teste só o NaCl contribuiu para o aumento de salinidade do substrato. A Figura 4 foi construída utilizando todos os valores de condutividade elétricas testadas nos experimentos 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Os resultados do experimento 7 encontra-se nas Tabelas 6 e 7.

Na análise de variância do experimento 7 (Tabela 6) pode ser observado que a germinação foi influenciada pela cultivar, e pelas concentrações de NaCl, sendo a interação entre estes fatores significativos. As melhores porcentagens de germinação ocorreram no tratamento controle e na concentração de 12,5 mM de sal, esta mesma tendência ocorreu para todas as cultivares, a exceção foi para a cultivar Hélio 253, que nas concentrações de 12,5 e 25 mM foram estatisticamente iguais, indicando que a germinação nesta cultivar foi menos afetada pela salinidade. Apenas na dosagem de 12,5 mM foram encontradas diferenças significativas estatisticamente entre as cultivares. Os comprimentos da raiz principal das cultivares Hélio 253 e 360 e Catissol 01 não sofreram influência das concentrações de sal utilizadas. A cultivar Hélio 250 foi afetada pela concentração de 25 mM de NaCl de forma significativa estatisticamente. Na cultivar 251 só ocorreu diferenças entre as concentrações de 25 mM e o controle.

Na avaliação da massa da raiz seca, as cultivares Hélio 250, 251 e Catissol 01 não forram influenciadas pelas concentrações de NaCl. A cultivar Hélio 253 só sofreu influência de NaCl na dosagem de 12,5 mM. Na cultivar Hélio 360 só ocorreu diferença entre as concentrações de 25 mM e o controle. É necessário observar que foram encontrados valores muito elevados de coeficiente de variação nesses parâmetros avaliados.

Na Tabela 07, encontra-se a análise de variância dos parâmetros comprimento da parte aérea e da massa da parte aérea seca. A análise de variância foi realizada considerando as cinco cultivares e apenas as dosagens 12,5; 25 mM e o controle. Não foram consideradas as concentrações de 50, 75 e 100 mM, nessas não ocorreram germinação de sementes. O comprimento da parte aérea, nas cultivares Hélio 250 e Catissol 01 sofreu influência somente na concentração de 25 mM. Na cultivar 253 as concentrações de 25 mM e o controle não foram diferentes estatisticamente. As cultivares Hélio 251 e Hélio 360 não foram influenciados pelas doses de sal. Na avaliação do parâmetro massa da parte aérea seca, as cultivares Hélio 251, 360 e Catissol 01 não foram afetadas pelas concentrações salinas. A cultivar Hélio 250 sofreu influência apenas da concentração de 25 mM e a cultivar Hélio 253 diferentemente, só foi afetada pela concentração de 12,5 mM. A massa da parte aérea seca das cultivares quando crescidas sem adição de sal não foram diferentes. Quando crescidas com 12,5mM as maiores massa foram encontradas nas cultivares Hélio 250, 350 e 251 respectivamente, sendo as menores massas das cultivares Hélio 253, 251 e Catissol 01. Na concentração de 25 mM, as maiores massas foram encontradas nas cultivares Hélio 253, 360 e Catissol 01 (Tabelas 6 e 7).

Tabela 5: Comprimento radicular (cm) de plantas de café (*Coffea arabica* L) cultivar Catuai Amarelo, crescidas com diferentes doses de alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O). Avaliação realizada 20 dias após transferência para a solução nutritiva completa. **Experimento 2.** 

		Conc	entração de		CV %	Pr≤F		
Comprimento radicular (mm)	0	80	160	320	640	1280	17,26	ns
Comprimento radicular (mm)	135,13		142,33			131,30	17,20	iis

ns\*- medias cujas diferenças na foram significativas estatisticamente

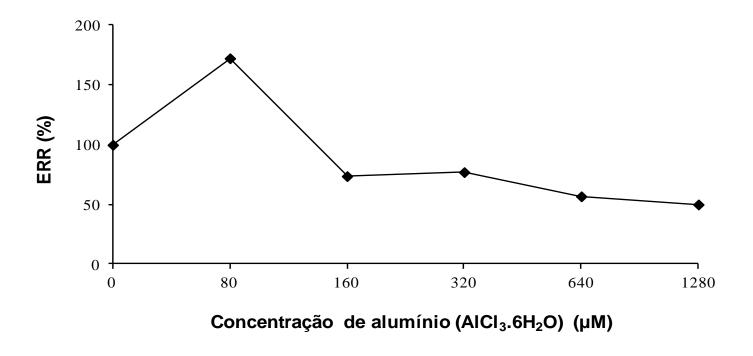


Figura 3: Dados médios elongação radicular relativa (ERR%) de plantas de café (*Coffea arabica* L) cultivar Catui Amarelo, crescidas por 20 dias em solução nutritiva completa com diferentes concentrações de alumínio (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O). **Experimento 2**.

Tabela 6: Germinação (%), do comprimento radicular (cm) e massa de raiz seca (mg planta-1) de plantas de girassol (*Helianthus annus* L) cultivares Helio, crescidas com diferentes doses de salinidade. Avaliação realizada 10 dias após a semeadura em solo. **Experimento 7**.

Conc.								Cultivare	es Helio						
NaCl (mM)	250	251	253	360	Cat 01	250	251	253	360	Cat 01	250	251	253	360	Cat 01
		Gerr	ninação	(%)		Comprimento da raiz principal (cm) Massa da raiz seca (MC								ca (MG)	
0	100Aa	95Aa	80Aa	100Aa	95Aa	8,94Aa	9,07Ba	13,3Aa	15,1Aa	10,1Aa	261Aa	154Aa	460Aa	245Ba	232Aa
12,5	85Aa	100Aa	40Bb	100Aa	70Aab	12,7Aa	10,7ABa	8,62Aa	15,1Aa	10,4Aa	166Aa	126Aa	94Ba	370ABa	206Aa
25	5Ba	35Ba	30Ba	25Ba	10Ba	2,50Bc	18,0Aa	16,6Aa	13,8Aab	4,6Abc	29Ac	245Abc	508Aab	642Aa	218Abc
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CV (%)			30,40									72,91			
Pr≥ F															
Cult			0,00796	!			(	),00916					0,00421		
Conc. NaCl			0,00001					ns					ns		
Cult X Conc. NaCl.			0,02423				(	),01326			0,00055				

Obs: Nesta tabela a análise de variância, foi realizada desconsiderando as concentrações 50, 75 e 100mM de NaCl devido não ter ocorrido germinação das sementes. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

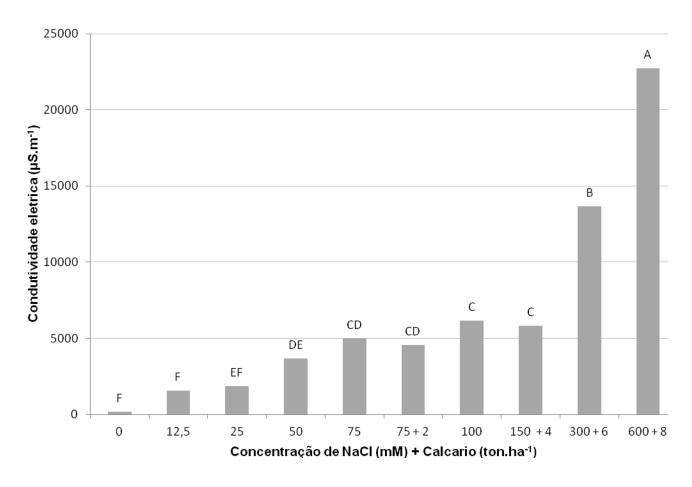


Figura 4: Media da condutividade dos experimentos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 avaliado em solo Argissolo amarelo 10 dias após aplicação de NaCl e calcário.

No experimento 8, que foi instalado com concentrações salina menores, foi avaliado o desenvolvimento de cultivares de girassol em quatro níveis de salinidade durante 25 dias. Na análise de variância (Tabela 8) analisando a germinação e massa da raiz seca, observouse que ocorreu efeito significativo estatisticamente para cultivar e concentração de NaCl e também da interação entre eles. Na avaliação do comprimento da raiz principal ocorreu somente efeito dos tratamentos estudados, sendo a interação não significativa.

Com relação a porcentagem de germinação, ainda na Tabela 8, quando foi avaliado a interação significativa, na comparação das doses dentro de cada cultivar, foi observado que nas cultivares Helio 250, 253 e Catissol 01, não ocorreram diferenças entre as concentrações de 0, 12.5 e 25 que tiveram as maiores taxas de germinação. As cultivares Helio 251 e 360, não foram influenciadas pelas concentrações de NaCl. Quando foi realizado a comparação das cultivares em cada concentração de NaCl, observou-se que, nas doses 0, 12.5 e 25mM de NaCl, não ocorreram diferenças entre as cultivares. Na concentração de 50mM as cultivares Helio 251, 360 e 250 não foram diferentes entre si e as menores taxas de germinação foram observadas nas cultivares Helio 253 e Catissol 01.

Na avaliação do desdobramento da interação significativa ocorrido na análise da massa da raiz seca, quando foi verificado o efeito das concentrações nas cultivares, observase que nas cultivares Helio 250, 251, 253 e Catissol 01 somente ocorreram diferenças entre as concentrações sem NaCl (que apresentaram as maiores médias) e na concentração de 50mM (que em todas as cultivares foi observado as menores médias). Na cultivar Helio 360 a maior média foi avaliada na concentração sem NaCl e as demais doses não foram diferentes entre si. Assim quando foi avaliado a comparação das cultivares em cada concentração de NaCl, nas doses 0 e 12.5 e 25mM as maiores taxas foram observadas na cultivar 250 que diferiu estatisticamente das demais cultivares. Na concentração de 50mM não ocorreu diferenças entre as cultivares.

Na Tabela 9, encontram-se os dados da análise de variância do comprimento de parte aérea e massa da parte aérea seca do experimento 8, sendo observado que ocorreu efeito significativo estatisticamente de cultivar e concentração de NaCl de forma isolada e também da interação entre eles. Na avaliação do comprimento de parte aérea, as cultivares Helio 250, 253 e 360 foram influenciadas da mesma maneira pelas concentrações de NaCl, verificado nas cultivares que não ocorreu diferenças entre as concentrações 0, 12.5 e 25mM e tiveram os maiores valores de comprimento de parte aérea. Na cultivar Helio 251 não ocorreram diferenças entres as concentrações 0 e 12.5mM, e também entre as concentrações 25 e 50mM que tiveram as menores médias. Na cultivar Catissol 01 as plântulas crescidas sem NaCl apresentaram o maior crescimento e este foi diferente estatisticamente das demais concentrações. Também ocorreu diferença entre a concentração 12.5 e 50mM onde foi observado as menores plântulas.

Na avaliação do efeito das concentrações de NaCl quando foi realizada a comparação entre as cultivares, não foi observada diferenças entre as cultivares crescidas sem NaCl. Nas concentrações 12.5 e 25mM ocorreu a mesma influencia entre as cultivares, sendo observado que não ocorreu diferenças entre as cultivares Helio 250, 251, 253 e 360. Na concentração de 50mM só ocorreu diferenças significativas entre as cultivares Helio 251 e Catissol 01 e as demais cultivares não foram diferentes entre si.

Tabela 7: Analise de variância (**Pr≥F**) dos dados médios do comprimento de parte aérea (cm), massa de parte aérea seca (mg planta<sup>-1</sup>) de plantas de girassol (*Helianthus annus* L) cultivares Helio, crescidas com diferentes doses de salinidade. Avaliação realizada 10 dias após a semeadura em solo. **Experimento 7**.

	Cultivares de girassol													
Conc. NaCl (mM)	250	251	253	360	Cat 01	250	251	253	360	Cat 01				
		Comprime	nto de par	te aérea (c		Massa de parte aérea seca (mg)								
0	7,20Aa	7,57Aa	8,13Aa	6,77Aa	6,84Aa	108Aa	110Aa	111Aa	92Aa	66Aa				
12,5	7,29Aa	6,66Aab	3,36Bb	7,78Aa	5,98Aab	125Aa	88Aab	42Bb	106Aab	50Ab				
25	1,73Bb	7,15Aa	7,83Aa	6,35Aa	2,00Bb	31Bb	84Aab	103Aa	101Aa	43Aab				
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
CV (%)			31,64					38,83						
Pr≥ F														
Cult			0,03149					0,01030						
Conc. NaCl			0,00247					ns						
Cult X Conc. NaCl.			0,00028					0,00463						

Nesta tabela a análise de variância, foi realizada desconsiderando as concentrações 50, 75 e 100mM de NaCl devido não ter ocorrido germinação das sementes. As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Tabela 8: Germinação, do comprimento radicular e de parte aérea em cm, massa da raiz seca (mg planta<sup>-1</sup>) de plantas de girassol (*Helianthus annus* L) cultivares Helio, crescidas com diferentes concentrações de NaCl. Avaliação da germinação foi realizada aos 4 e 10 dias e o comprimento da raiz principal e massa seca da raiz foi realizada 25 dias após a semeadura em solo. **Experimento 8**.

							Cu	ltivares (	le girass	ol							
Conc. NaCl (mM)	250	251	253	360	Cat 01	250	251	253	360	Cat 01	250	251	253	360	Cat 01		
		Ger	rminação	(%)		(	Comp. ra	niz princi	pal (cm)	)		Massa	seca de rai	seca de raiz (mg)			
0	100Aa	100Aa	95Aa	100Aa	90Aa	20	19	13	17	16	967Aa	616Ab	438Abc	530Ab	261Ac		
12,5	100Aa	100Aa	90Aa	90Aa	90Aa	19	17	11	14	7	745ABa	381ABb	291Abc	263Bbc	84ABc		
25	90Aa	70Aa	85Aa	95Aa	85Aa	13	8	9	13	5	524Ba	190BCb	205ABb	243Bb	14ABb		
50	55Ba	75Aa	20Bb	70Aa	5Bb	9	7	3	3	0	73Ca	75Ca	12Ba	32Ba	1Ba		
CV (%)			20,41					32,69					45,41				
Pr≥ F																	
Cult			0,00081					0,00001					0,00001				
Conc. NaCl			0,00001					0,00001					0,00001				
Cult X Conc.	NaCl.		0,00041					ns*					0,00557				

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

ns\* - não significativo

Na avaliação da massa da parte aérea seca, com relação ao efeito de cultivar pode ser notado que as cultivares Helio 253 e 360 sofreram a mesma influência de NaCl, e foram mais afetadas na concentração de 50mM que foi diferente estatisticamente das demais. Na cultivar Helio 250 a maior média foi avaliada com 25mM de NaCl que foi diferente estatisticamente das demais e a menor média foi observada na dose de 50mM e as demais não foram diferentes entre si. Na cultivar 251 só ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as concentrações 12.5 e 50mM. Na cultivar Catissol as plântulas crescidas sem NaCl, foram diferentes das plântulas crescidas nas demais concentrações que não foram diferentes entre si. No estudo do efeito de concentração quando foi realizado a comparação das cultivares na concentração 0, não ocorreu diferenças entre as cultivares. Nas concentrações 12.5 e 50mM só ocorreu diferenças significativas estatisticamente entre as cultivares Helio 251 e Catissol 01. Na concentração 25mM, a maior massa de parte aérea foi avaliada na cultivar 250 que diferiu estatisticamente das demais. As cultivares Helio 251, 253 e 360 não foram diferentes entre si e a cultivar Catissol 01 obteve a menor massa de parte aérea. A avaliação do efeito isolado de cultivares e concentração de NaCl quando foi analisado o parâmetro comprimento da raiz principal estão na Tabela 10. No efeito isolado de cultivares, não ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as cultivares Helio 250, 251 e 360, como também entre as cultivares Helio 253 e Catissol 01. No efeito isolado de concentração de NaCl, ocorreram diferenças significativas entre todas as concentrações, sendo observado a diminuição do comprimento da raiz principal com o aumento da concentração de NaCl no substrato.

- 4.3 Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio e de salinidade em plântulas
- 4.3.1 Experimento 9. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio em plântulas de girassol

O experimento 9, foi instalado em solo acidificado artificialmente com alumínio onde posteriormente foram plantadas sementes de girassol e realizadas regulares aplicação de nitrogênio. Na Tabela 11 estão os resultados da análise de variância quando foi avaliada a germinação e a massa da raiz seca, mostrando que só ocorreu efeito significativo estatisticamente e de forma isolada para concentração de alumínio. Quando foi avaliada a massa da parte aérea seca ocorreu efeito significativo estatisticamente e de forma isolada para fonte de nitrogênio e concentração de alumínio. A interação entre estes dois parâmetros não foi significativa.

Ainda avaliando o experimento 9, na Tabela 12 podem ser observados os resultados da análise de variância do estudo do pH da rizosfera e do pH do solo e verificando para estas variáveis que ocorreu efeito significativo estatisticamente e de forma isolada para

concentração de alumínio. A avaliação do efeito isolado de fonte de nitrogênio e da interação entre fonte de nitrogênio e concentração de alumino não foi significativa estatisticamente.

Os efeitos significativos estatisticamente de forma isolada do experimento 9, são apresentados na Tabela 13. Na avaliação da germinação, podem ser verificados que ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as concentrações 0, 3000 e 6000 kg ha-1 de alumínio, sendo que sem alumínio ocorreu a maior taxa de germinação e com 6000 kg h-1 ocorreram as menores taxas. No efeito isolado de concentração de alumínio quando foi avaliada a massa da raiz seca, foi observado que entre 0 e 1500 não ocorreram diferenças significativas estatisticamente, mas ocorreram diferenças entre 0, 3000 e 6000 kg.ha de alumínio e as plântulas crescidas sem alumínio obtiveram o maior acúmulo de massa seca e as crescidas com 6000kg/ha de alumínio obtiveram os menores valores quando foi avaliados o acúmulo de massa seca. Na avaliação da massa da parte aérea seca, nos efeito isolado da fonte de nitrogênio pode ser observados que não ocorreu diferenças significativas entre a fonte KNO<sub>3</sub> e sem nitrogênio, sendo os efeitos ocorridos nas plântulas crescidas com a fonte (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diferente das demais e com as menores taxas de acúmulo de massa na parte aérea.

Quando foi avaliado o efeito isolado de concentração de alumínio, ocorreram diferenças significativas entre as concentrações 0, 3000 e 6000kg ha de alumínio, observando-se as maiores taxas de acumulo de massa seca quando as plântulas crescem sem alumínio e com a concentração de 1500kg ha de alumínio.

Ainda nos resultados dos efeitos isolados, na avaliação do pH da rizosfera, só ocorreram diferenças significativas entre as concentrações 0 e 3000 kg há. Nas plântulas crescidas na concentração de 6000kg ha de alumínio não foi possível avaliar o pH de rizosfera por falta de substrato aderido as raízes que não cresceram com este nível de alumínio. No efeito isolado de concentração de alumínio quando foi avaliado o pH do solo, ocorreram diferenças significativas entre a concentração 0, 1500 e 6000 kg há, sendo o maior pH avaliado no solo que não foi aplicado alumínio.

# 4.3.3 Experimento 10. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade de alumínio em plântulas de abacaxi

O experimento 10, foi realizado com mudas de abacaxi tipo filhote que cresceram em solução nutritiva completa com diferentes doses de alumínio e fornecimento constante de nitrogênio. Os resultados da análise de variância apresentados na Tabela 17, demonstram que na avaliação do comprimento radicular, ocorreu efeito significativo estatisticamente de forma isolada para fonte de nitrogênio, concentração de nitrogênio e concentração de alumínio. Foram significativas as interações entre concentração de nitrogênio e fonte de nitrogênio e também a interação concentração de alumínio e fonte de nitrogênio. Quando foi avaliado a massa da raiz seca, ocorreu efeito significativo estatisticamente de forma isolada para concentração de nitrogênio e concentração de alumínio, também ocorreu efeito significativo estatisticamente da interação entre concentração de nitrogênio e concentração de alumínio.

Tabela 9: Comprimento de parte aérea (cm), massa da parte aérea seca (mg planta<sup>-1</sup>) de plantas de girassol (*Helianthus annus* L) cultivar Helio, crescidas com diferentes concentrações de NaCl. Avaliação realizada 10 dias após a semeadura em solo. **Experimento 8.** 

Conc.				(	Cultivares	de girasso	ol			
NaCl (mM)	250	251	253	360	Cat 01	250	251	253	360	Cat 01
	C	omprimen	to de parte	aérea (d	em)		Massa sec	a de part	e aérea (m	g)
0	21Aa	21Aa	20Aa	18Aa	20Aa	666Ba	755ABa	855Aa	713Aa	679Aa
12,5	18Aa	22Aa	18Aa	19Aa	10Bb	527Bab	813Aa	744Aa	703Aa	253Bb
25	15Aa	13Ba	15Aa	17Aa	4BCb	1003Aa	501BCb	651Ab	590Ab	116Bc
50	6Bab	11Ba	4Bb	5Bab	1Cb	220Cab	319Ca	33Bab	120Bab	10Bb
CV (%)			27,01					28,94		
Pr≥ F										
Cult			0,00001					0,00001	l	
Conc. NaCl			0,00001					0,00001	[	
Cult X Conc.	NaCl.		0,01278					0,00001	1	

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Tabela 10: Comprimento da raiz principal e análise estatística geral (**Pr≥F**) das variáveis avaliadas em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivar Helio, crescidas por 25 dias em solo salinizado com diferentes concentrações de NaCl. **Experimento 8**.

		Cultiv	vares de giras	sol	
_	250	251	253	360	Cat. 01
Comp. da raiz	15,14 a	12,64 ab	9,17 bc	11,70 ab	7,07 c
principal (cm)		Concentra	ações de NaC	l (mM)	
	0	12.5	j	25	50
_	16,98 a	13,61	b	9,53 с	4,45 d

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% dentro de cada interação e de cada parâmetro.

Tabela 11: Germinação (%), massa da raiz e parte aérea seca (mg planta<sup>-1</sup>) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L) cultivares Helio 360, crescidas com diferentes concentrações de alumínio e fontes de nitrogênio. Avaliação da germinação foi realizada aos 4 e 10 dias e da massa de raiz e parte aérea seca foram realizada 30 dias após a semeadura em solo. **Experimento 9.** 

				Fon	te de nitrogé	ènio (mM)			
Conc. — AlCl <sub>3</sub> (kg.ha)	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	(	Germinação (	<b>%</b> )	Massa	a de raiz sec	a (mg)	Massa d	la parte aérea	seca (mg)
0	100	100	100	912,25	863,00	806,50	4001,00	3857,75	3320,25
1500	100	95	95	606,25	703,75	699,00	3233,00	3675,75	3012,00
3000	80	85	70	477,00	591,50	319,63	2060,00	2519,75	1374,88
6000	15	50	15	0,00	33,88	17,38	0,00	130,38	70,38
CV (%)		24,90			35,79			18,88	
Pr≥ F									
Fonte de N		ns*			ns			0,00129	
Conc. AlCl <sub>3</sub>		0, 00001			0, 00001			0,00001	
Fonte N X Con	ıc. AlCl3.	ns			ns			ns	

Tabela 12: Valores de pH da rizosfera e do solo de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L) cultivar Helio 360, crescidas com diferentes concentrações de alumínio e fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura em solo. **Experimento 9.** 

			Fonte de nitrogên	nio (mM)		
Conc. AlCl <sub>3</sub> (kg.ha)	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
		pH da rizosfera	a		pH do solo	
0	5,31	5,67	5,32	5,23	5,39	5,32
1500	4,69	4,54	4,73	4,62	4,49	4,47
3000	4,28	4,29	3,11	4,15	4,28	4,25
6000	0,00	1,10	1,01	4,00	3,96	3,97
CV (%)		28,915			3,39	
Pr≥ F						
Fonte de N		ns*			ns	
Conc. AlCl <sub>3</sub>		0, 00001			0, 00001	
Fonte N X Conc. A	AlCl <sub>3</sub> .	ns			ns	

Tabela 13: Efeito isolado das diferentes concentrações de alumínio e fontes de nitrogênio na germinação (%), massa da raiz e da parte aérea seca (mg.planta) e pH da rizosfera e do solo, em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivar Helio 360. **Experimento 9**.

	Concentraç	ões de AlCl3	
0	1500	3000	6000
100 a	96.66 ab	78.33 b	26.66 c
	Concentraç	ões de AlCl3	
0	1500	3000	6000
860.58 a	669.66 a	462.70 b	17.08 c
	Fonte de	nitrogênio	
0	KN	$1O_3$	$(NH_4)_2 SO_4$
2323.50 a	2545	5.90 a	1944.37 b
	Concentraç	ões de AlCl3	
0	1500	3000	6000
3726.33 a	3306.91 a	1984.87 b	66.91 c
	Concentraç	ões de AlCl <sub>3</sub>	
0	1500	3000	6000
5.43 a	4.68 ab	3.87 b	0
	Concentraç	ões de AlCl3	
0	1500	3000	6000
	0 860.58 a 0 2323.50 a 0 3726.33 a	0 1500  Concentraç 0 1500  860.58 a 669.66 a  Fonte de 0 KN 2323.50 a 2545  Concentraç 0 1500  3726.33 a 3306.91 a  Concentraç 0 1500  5.43 a 4.68 ab	Concentrações de AlCl3         0       1500       3000         860.58 a       669.66 a       462.70 b         Fonte de nitrogênio         0       KNO₃         2323.50 a       2545.90 a         Concentrações de AlCl₃         0       1500       3000         3726.33 a       3306.91 a       1984.87 b         Concentrações de AlCl₃         0       1500       3000         5.43 a       4.68 ab       3.87 b

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% dentro de cada interação e de cada parâmetro.

No estudo do comprimento radicular das mudas de abacaxi, no desdobramento da interação significativa entre concentração de nitrogênio e fonte de nitrogênio, foi observado na avaliação do efeito de concentração, que nas plantas sem nitrogênio e com 4mM de nitrogênio ocorreram o mesmo comportamento, não sendo observado diferenças no comprimento radicular entre as fontes de nitrogênio. Na concentração de 2mM de nitrogênio a fonte NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foi diferente estatisticamente das demais e alcançou o maior comprimento radicular. Na avaliação do efeito das concentrações em cada fonte de nitrogênio, foi observado nas fontes NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> o mesmo desempenho nas concentrações de nitrogênio, sendo que só ocorreram diferenças significativas entre as concentrações de 0 e 2mM de N. Na fonte NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, não ocorreu diferenças significativas estatisticamente entre as concentrações 0 e 2mM de nitrogênio, aonde foram observadas as maiores medias de comprimento radicular.

Na avaliação da interação entre concentração de alumínio e fonte de nitrogênio, quando foi avaliado o efeito das fontes de N em cada concentração de alumínio, foi observado que nas concentrações 0, 150 e 300 $\mu$ M as plantas apresentaram o mesmo desempenho, não sendo observado diferenças significativas entre as fonte de nitrogênio. Já na concentração de 75 $\mu$ M de alumínio, as plantas crescidas com NH<sub>4</sub><sup>+</sup> foram estatisticamente diferentes das demais e alcançaram o maior comprimento radicular. Na concentração de 600 $\mu$ M de alumínio só ocorreram diferenças entre as fontes NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Ainda estudando as interações, quando foi avaliado o efeito das concentrações de alumínio em cada fonte de nitrogênio, foi observado na fonte NO<sub>3</sub><sup>-</sup> que não ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as concentrações. Na fonte NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, e com a concentração 75 $\mu$ M o comprimento radicular foi estatisticamente diferente das concentrações 150, 300 e 600 $\mu$ M de alumínio. E na fonte NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, não ocorreram diferenças significativamente estatísticas entre as concentrações 0, 75, 150 e 600 $\mu$ M de alumínio.

Na avaliação da massa da raiz seca, quando foi realizado o desdobramento da interação significativa estatisticamente entre concentração de alumínio e concentração de nitrogênio, observa-se no estudo do efeito das concentração de nitrogênio em cada concentração de alumínio, que nas concentrações 75, 150, 300 e 600µM de alumínio o mesmo desempenho, não sendo observado diferenças significativas estatisticamente entre as concentrações de nitrogênio. Mas na concentração 0 de alumínio, observa-se que com o aumento da concentração de nitrogênio na solução nutritiva ocorreu diminuição do acúmulo de massa seca nas raízes.

Ainda estudando a interação, mais agora avaliando o efeito de cada concentração de alumínio dentro de cada concentração de nitrogênio, nota-se que nas plantas crescidas sem nitrogênio, a concentração 0 de alumínio foi diferente estatisticamente das demais, e alcançou o maior acumulo de massa seca, e as demais concentrações não diferiram entre si. Nas concentrações 2 e 4mM de nitrogênio não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações de alumínio.

Tabela 17: Comprimento radicular médio (mm) e massa da raiz seca (mg) de plantas de abacaxi (*Anannas comosus* Merrill) cv. Perola, crescidas com diferentes concentrações de alumínio. Avaliação realizada 20 dias após o transplante para a solução nutritiva. **Experimento10.** 

				Compris	mento radio	cular (cm)							Mas	ssa da raiz	seca (mg)			
								(	Concentração o	de nitrogênio	(mM)							
Conc. AlCl <sub>3</sub> (µM)		0			2			4			0			2		_	4	
							F	ontes de	nitrogênio				-					
				$NO_3$	NH <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	$NO_3$	NH <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	$NO_3$	NH <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>
0	22,36	33,48	27,24	15,04	16,00	13,94	12,8	13,9	19,03	33,50	51,25	54,75	21,0	14,00	11,00	12,25	9,00	20,00
75	23,08	23,22	14,52	6,40	30,24	21,58	9,61	21,5	16,75	20,75	16,75	15,75	8,50	17,00	12,75	5,75	18,7	17,25
150	17,32	17,73	17,68	19,54	17,30	11,39	14,2	11,3	11,04	14,50	14,00	19,25	26,5	19,25	12,00	10,25	9,00	9,00
300	18,26	14,17	15,79	6,68	22,70	7,05	19,2	7,05	14,49	13,50	16,75	17,50	8,25	29,50	8,25	17,25	3,75	12,00
600	13,26	15,06	15,43	6,48	15,62	15,57	12,9	15,5	20,82	10,00	15,50	15,25	6,50	8,50	18,25	13,50	8,75	22,25
CV( %)					46.81									73.06				
P≥0.05																		
Fonte					0.01	770								ns				
Conc. N					0.000	070								0.0000	1			
Conc AlCl3					0.033	580								0.0000	2			
Conc N X Fonte	<u>,</u>				0.012	220								ns				
Conc. N x Conc	: AICI <sub>3</sub>				ns	•								0.0000	1			
Conc AlCl <sub>3</sub> X F					0.01	170								ns				
Conc N X Conc X Fonte N	c AlCl <sub>3</sub>				ns	i								ns				

Tabela 18: Interação das variáveis do comprimento radicular e da massa da raiz seca de mudas de abacaxi (*Ananas comosus* Merrill) tipo filhote da cv. Perola, crescidas em solução nutritiva completa com fontes de nitrogênio e diferentes concentrações de alumínio. **Experimento 10.** 

	Fonte N		Concentrac	ção de nitrogê	nio (mM)	
	Pointe IV	0		2		4
_	NO <sub>3</sub> -	18,85A	<b>X</b> a	10,82Bb	13	3,78Aab
_	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	20,75A	<b>X</b> a	20,37Aa	1	3,90Ab
Comprimento – radicular	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	18,13 <i>A</i>	<b>X</b> a	12,10Bb	16	5,42Aab
(cm)	Fonte N		Concentra	ação de alumír	nio (µM)	
	rome N	0	75	150	300	600
_	NO <sub>3</sub> -	16,74Aa	13,02 Ba	17,04 Aa	14,71 Aa	10,90 Ba
<del>-</del>	$\mathrm{NH_4}^+$	21,04 Aab	25,01 Aa	15,47 Ab	14,63 Ab	15,41ABb
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	19,63Aa	13,82Ba	12,59Aa	13,55Ab	18,16Aa
	Conc. N		Concentra	nção de alumír	nio (µM)	
	(mM)	0	75	150	300	600
Massa da raíz – seca (mg)	0	46,50Aa	17,75Ab	19,25Ab	15,91Ab	14,83Ab
_	2	15,33Ba	13,61Aa	15,91Aa	15,33Aa	13,58Aa
_	4	13,75Ba	12,75Aa	9,41Aa	11,00Aa	11,08Aa

Media seguida de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre pelo teste Tukey a 5%.

# 4.3.2. Experimento 11. Liberação OH- e H+ na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento, visando alterar a toxicidade por de salinidade em plântulas de girassol

No experimento 11, as plântulas de girassol foram crescidas em solo com diferentes níveis de salinidade e receberam constantemente aplicações de fontes de nitrogênio no solo, e os resultados obtidos podem ser avaliados na Tabela 14, 15 e 16. Na análise de variância de germinação, massa da raiz seca e massa da parte aérea seca apresentados na Tabela 14, observa-se no estudo da porcentagem germinação, que ocorreu efeito significativo estatisticamente para concentração de NaCl de forma isolada e da interação de concentração de NaCl e fonte de nitrogênio. Na avaliação da massa da raiz seca só ocorreu efeito significativo estatisticamente e de forma isolada para concentração de NaCl. No estudo do acumulo de massa seca na parte aérea, ocorreram efeito significativo estatisticamente para fonte de nitrogênio e concentração de NaCl e a interação foi não significativa.

No estudo da germinação (Tabela 14) na realização do desdobramento da interação significativa entre fonte de nitrogênio e concentração de NaCl, quando foi avaliado o efeito da concentrações de NaCl em cada fonte de nitrogênio, observa-se que sem nitrogênio só ocorreu diferenças significativas estatisticamente entre a concentração 0 e 25mM de NaCl e com 50mM não ocorreu germinação. Na avaliação das fontes NO<sub>3</sub>- e NH<sub>4</sub>+ foi constatado o mesmo comportamento, observando que não ocorreram diferenças significativas entre as concentrações 0 e 12.5mM de NaCl, e foi avaliado nestas doses as maiores taxas de germinação. No efeito das concentrações de NaCl, pode ser observado que sem NaCl não ocorreu diferenças significativas na taxa de germinação entre as fontes de nitrogênio. Com uso de 12.5mM de NaCl só ocorreram diferenças significativas entre N0<sub>3</sub>- (que apresentou as maiores medias de germinação) e o tratamento sem nitrogênio. E com uso de 25mM de NaCl as maiores taxas de germinação foram avaliadas nos tratamentos sem nitrogênio e com KNO<sub>3</sub>.

Na tabela 15, podem ser observados os resultados da análise de variância da condutividade elétrica da rizosfera e do solo que foram avaliados no experimento 10. Na análise da condutividade elétrica da rizosfera foi verificado que ocorreu efeito significativo estatisticamente para fonte de nitrogênio, concentração de NaCl e também da interação entre estes dois parâmetros. Na avaliação da condutividade elétrica do solo, somente ocorreu efeito significativo estatisticamente para concentração de NaCl. Ainda na Tabela 15, no desdobramento da interação ocorrida nos dados de pH da rizosfera, quando foi avaliado o efeito das concentrações de NaCl dentro de cada fonte de N, verificou que sem nitrogênio não ocorreu diferenças significativas entre a concentrações de NaCl. Na fonte NO<sub>3</sub>-, só ocorreu diferencas entre as condutividades elétricas das concentrações 25mM e sem NaCl. E na fonte NH<sub>4</sub><sup>+</sup> só ocorreu diferenças significativas entre a dose 12.5mM e a 25mM, sendo que nesta na concentração de 25mM não foi possível avaliar a condutividade. Já no analisando a comparação das fontes de N em cada concentração de NaCl, verificou que na concentração 0 e 12.5 não ocorreram diferenças entras as fontes de N, e na concentração 25mM não ocorreu diferença entre a fonte 0 e nitrato e estas foram significativamente diferentes da fonte NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

A análise dos efeitos significativos estatisticamente de forma isolada de massa da raiz e parte aérea seca e condutividade elétrica do solo, podem ser observados na Tabela 16.

Com relação à massa da raiz seca, no efeito do NaCl note-se que as plantas crescidas sem NaCl foram diferentes estatisticamente das demais e acumularam mais massa seca, e as demais concentrações não foram diferentes entre si. Para massa da parte aérea seca, só ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as plântulas crescidas com a fonte NO<sub>3</sub>- (obtendo maior massa) e as crescidas com NH<sub>4</sub>+ (que obtiveram o menor acumulo de massa). O maior acumulo de massa seca da parte aérea foi observado nas plântulas crescidas sem NaCl, que diferiram significativamente das demais e estas também foram diferentes entre si. Foi observado efeito isolado de concentração de NaCl, em relação à condutividade elétrica do solo: ocorreram diferenças significativas entre as concentrações de NaCl, e na concentração 50mM de NaCl ocorreu a maior condutividade e sem NaCl a menor condutividade elétrica.

# 4.4 Efeito da Liberação OH<sup>-</sup> e H<sup>+</sup> na rizosfera utilizando as fontes nitrogenadas de nitrato e amônio aplicado no substrato de crescimento na associação entre o *Trichodermaspp* e a raiz.

### 4.4.1 Experimento 12. Teste do crescimento do fungo Trichoderma em diferentes pH(s) – placa de Petri.

Neste estudo foi avaliado por dez dias o crescimento do fungo *Trichodermaspp* em meio de cultivo com pH ajustado para diferentes níveis, iniciando em um nível ácido e terminando em um nível alcalino. Após este período, foi realizado a análise de variância dos dados e como pode ser observado na Figura 5 ocorreu efeito significativo estatisticamente quando foi comparado a porcentagem de infecção em cada nível de pH. Não ocorreram diferenças significativas quando o fungo cresceu nos níveis de pH 7, 6 e 5, mas estes níveis foram diferentes dos demais. Entre os níveis 3 e 4 também não ocorreu diferença significativa, nesses foram avaliados os menores valores de pH, as menores porcentagens de crescimento do fungo.

Na Figura 6 pode ser avaliado que dez dias após a inoculação do fungo no substrato, com níveis de pH 3 e 4 não foi observado crescimento do fungo na maioria das placas. Nas placas dos níveis 5 e 6, pode-se avaliar que em mais de 60% das placas ocorreu crescimento do fungo, e nas placas com o pH 7 observou-se que ocorreu crescimento em 100% das placas utilizadas.

Desta forma pode ser avaliado neste experimento que o fungo *Trichodermaspp* tem uma faixa preferencial de crescimento em níveis de pH acima de 5.

Tabela 14: Porcentagem de germinação (%), massa da raiz e parte aérea seca (mg planta<sup>-1</sup>) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L) cultivar Helio 360, crescidas com diferentes concentrações de NaCl e fontes de nitrogênio. Avaliação da germinação foi feita aos 4 e 10 dias e a massa de raiz e parte aérea seca aos 30 dias após a semeadura em solo. **Experimento 11.** 

<b>G</b>				Fon	te de nitrogé	enio (mM)			
Conc NaCl (mM) _	0	KNO <sub>3</sub>	(NH4) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
		Germinação	)	Ma	ssa de raiz s	seca	Mass	a da parte aér	ea seca
0	90 Aa	95 Aa	100 Aa	846,50	795,75	857,75	3886,50	3923,75	3404,75
12.5	80 ABb	100 Aa	85 Aab	316,88	507,00	360,75	1535,88	2507,00	1810,50
25	60 Ba	45 Ba	20 Bb	123,50	195,75	0,00	811,25	1177,75	0,00
50	0 Ca	0 Ca	0 Ba	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CV (%)		19.87			35.82			30.70	
Pr≥ F									
Fonte N		ns			ns			0.00536	
Conc. NaCl		0.00001			0.00001			0.00001	
Fonte N X Co	onc. NaCl	0.00093			ns			ns	

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Tabela 15: Analise de variância (**Pr≥F**) dos dados médios de condutividade elétrica (C.E.) da rizosfera e do solo de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L) cultivar Helio 360, crescidas com diferentes níveis de salinidade. As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura em solo. **Experimento 11.** 

			Fonte de nitrogê	nio (mM)		
Conc. NaCl (mM)	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0	KNO <sub>3</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
		C.E. da rizosfera	a		C.E. do solo	
0	129,70 ABa	121,10 BCa	126,15 ABa	106,73	108,38	140,88
12.5	242,50 ABa	383,75 ABa	298,75 Aa	1044,25	874,75	1279,25
25	318,50 Aa	562,25 Aa	0 Bb	1482,00	1370,75	1419,00
50	0	0	0	2805,00	2655,00	2483,00
CV (%)		77.96			31.53	
Pr≥ F						
Fonte de N		0.01056			ns	
Conc. NaCl		0.00001			0.00001	
Fonte de N X Co	onc. NaCl	0.00434			ns	

Tabela 16: Efeito isolado de massa da raiz e da parte aérea seca (mg.planta) e condutividade elétrica (C.E em µS cm) da rizosfera de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cultivar Helio 360, crescidas por 30 dias em solo com diferentes concentrações de NaCl. **Experimento 11.** 

		Concentraç	ões de NaCl	
Massa da raiz seca	0	12.5	25	50
_	833.33 a	394.87 b	106.41 b	0 b
		Fonte de	nitrogênio	
	0	KN	$IO_3$	$(NH_4)_2 SO_4$
Massa da parte	1558.40 ab	1902	.12 a	1303.81 b
aérea seca		Concentraç	ões de NaCl	
	0	12.5	25	50
	3738.33 a	1951.12 b	663.00 c	0 d
		Concentraç	ões de NaCl	
C.E. do solo	0	12.5	25	50
	118.65 c	1066.08 b	1423.91 b	2647.66 a

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5% dentro de cada interação e de cada parâmetro.

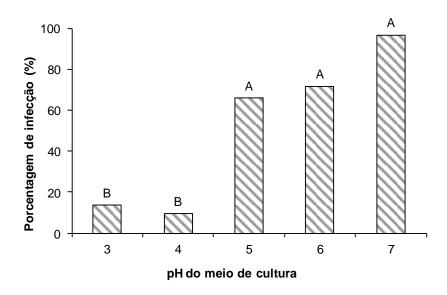


Figura 5: Avaliação visual da porcentagem de infecção por fungo *Trichoderma spp*. em meio de cultura com diferentes níveis de pH, aos 10 dias após a inoculação de 1mL da solução de Trichobio em placa de petri. Medias seguidas da mesma letra não diferen entre si pelo teste Tukey 5%. **Experimento 12**.

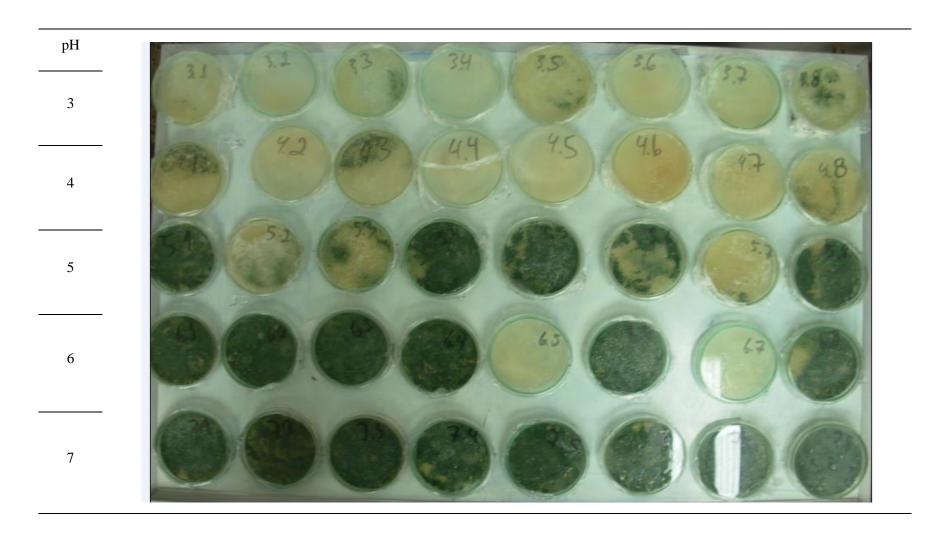


Figura 6: Placas de Petri após a infecção por fungo *Trichoderma* em meio de cultura com diferentes níveis de pH, aos 10 dias após a inoculação de 1mL da solução de Trichobio no meio de cultura. **Experimento 12.** 

### 4.4.2. Experimento 13. Colocação simultânea do fungo *Trichoderma* e fontes de nitrogênio no substrato de crescimento de plântulas de Maracujá — Cinco dias de contato.

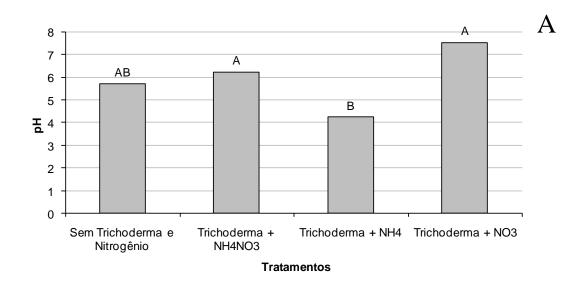
No experimento 15, as plântulas de maracujá foram transplantadas para solução nutritiva completa e foram realizados tratamentos com fontes de nitrogênio e inoculação de fungo Trichoderma e ao final do período de cinco dias, as raízes das plântulas foram avaliadas para verificar a se havia ocorrido a infecção pelo fungo nas raízes das plântulas e também analisar as mudanças do pH da solução.

Na Figura 7-A, pode ser analisado os dados de pH de cada tratamento, sendo observado na comparação das medias pelo teste Tukey a 5%, que não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos Trichoderma +  $NO_3$ -, Trichoderma+ $NH_4NO_3$  e sem Trichoderma e Nitrogênio, mas estes foram diferentes significativamente do tratamento Trichoderma+ $NH_4$ - que obteve o menor valor de pH na solução.

Na Figura 7-B, são apresentados os valores da porcentagem de infecção avaliadas nas raízes das plântulas crescidas com *Trichoderma* e nitrogênio, assim na comparação das medias de porcentagem de infecção pelo teste Tukey a 5% verifica-se que ocorreu efeitosignificativo estatisticamente, mas não teve diferenças entres os tratamentos quando foram comparadas as porcentagens de infecção entre si, e dessa forma pode-se entender que as diferentes fontes de nitrogênio não influenciaram a colonização das raízes de maracujá pelo fungo.

### 4.4.3. Experimento 14. Colocação simultânea do fungo *Trichoderma* e fontes de nitrogênio no substrato de crescimento de plântulas de Maracujá – 30 dias de contato.

No experimento 14, foi avaliado por um período de 30 dias, o crescimento de plântas de maracujá com o fornecimento constante de nitrogênio, com a inoculação do fungo *Trichoderma spp.* Na Tabela 19 são apresentados os dados da análise de variância das variáveis estudadas no experimento 14. Observou-se para massa da raiz e da parte aérea seca e pH da rizosfera, que ocorreu interação significativa estatisticamente e de forma isolada para fonte de nitrogênio, e avaliação da concentração de Trichobio. As interações entre fonte de nitrogênio e diferentes concentrações de Trichobio não foram significativos estatisticamente.



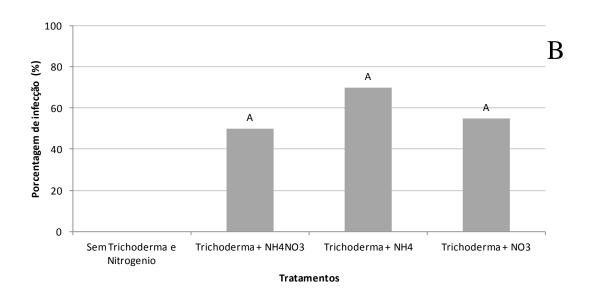


Figura 7: Valores de pH final da solução de crescimento (A) e a porcentagem de infecção em raízes (B) em plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, que permaneceram por 5 dias em solução nutritiva completa com lmL de solução concentrada de fungo *Trichoderma spp* e foram submetidas durante este período, ao fornecimento de 0,5mM das fontes de nitrogênio nitrato de potássio, sulfato de amônia e nitrato de amônia. Medias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey 5%. **Experimento 13.** 

Na avaliação da porcentagem de infecção, só ocorreu efeito significativo para concentração de Trichobio. Entretanto, analisando isoladamente a concentração de Trichobio de 10 ml/kg de solo e os as fontes de nitrogênio, pode ser observado que a fonte de N exerceu efeito na porcentagem de infecção, sendo encontrado o maior valor sem a adição de nitrogênio, seguido da fonte como nitrato e como amônio. Na maior concentração de Trichobio, os percentuais de infecção do Trichoderma nas fontes foram semelhantes, indicando efeito da concentração do produto.

A massa da raiz seca sofreu influência da fonte de nitrogênio (Tabela 20), sendo que no tratamento com NO<sub>3</sub>- foram obtidas as maiores médias. O menor acúmulo de massa radicular foi obtido nas plantas crescidas com NH<sub>4</sub>. O mesmo resultado foi observado na avaliação da massa seca de parte aérea, onde os tratamentos com NO<sub>3</sub> foram diferente estatisticamente das demais, e tiveram o maior acúmulo de massa e as demais fontes não foram diferentes entre si. No pH da rizosfera, as plantas crescidas com NO<sub>3</sub> foram iguais a testemunha segundo o teste de Tukey 5% e ambas diferentes da NH<sub>4</sub>. Ainda na Tabela 20, quando se avaliou as doses de Thichobio utilizadas, 10 e 30 ml/kg, elas foram iguais estatisticamente, porém diferentes da testemunha.

No experimento 14, também foram avaliados a concentração de cálcio, magnésio, fósforo e potássio nas raízes e parte aérea das plantas de maracujá após a inoculação com fungo *Trichoderma* e fornecimento de nitrogênio. Na Tabela 21, estão apresentados a análise de variância dos dados da concentração dos nutrientes avaliados nas raízes de maracujá e pode-se observar que na avaliação de cálcio só ocorreu efeito significativo estatisticamente para concentração de Trichobio. Quando foram avaliados a concentração de magnésio e fósforo não ocorreu efeito significativo em nenhum dos parâmetros estudados, e na análise de variância da concentração de potássio, ocorreu efeito significativo estatisticamente de fonte de nitrogênio e da interação de fonte de nitrogênio e concentração de Trichobio.

No desdobramento do efeito significativo estatisticamente da interação entre fonte de nitrogênio x concentração de Trichobio, na análise de potássio nas raízes (Tabela 21), pode ser observado o efeito do efeito das concentrações de Trichobio dentro de cada fonte de nitrogênio os seguintes resultados: quando não foi aplicado nitrogênio, não ocorreu diferenças significativas no acúmulo de potássio entre as concentrações de Trichobio.

Tabela 19: Massa da raiz e da parte aérea seca (g kg<sup>-1</sup>), pH da rizosfera e porcentagem de infecção (%) em plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14.** 

	Mas	sa da raiz	seca	Massa d	a parte aé	rea seca	рН	da rizos:	fera	Por	rcentagen infecção	
Conc. Trichobio (ml/ kg solo)					Font	e de nitrog	gênio (mN	M)				
	0	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$	0	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$	0	$NO_3^-$	$NH_4{^+}$	0	$NO_3$	$NH_4^+$
0	859,65	1441,40	378,65	985,15	3234,40	814,65	6,20	6,63	5,10	28,13	15,63	48,44
10	700,15	1426,65	235,90	1043,15	3044,65	728,65	6,49	6,51	5,14	89,06	60,63	43,75
30	628,40	1142,65	353,90	883,40	2747,90	951,40	6,15	6,67	4,95	82,81	85,63	79,69
CV%		50.33			19.69			4.01			38.13	
Pr≥F												
Fonte N		0.00001			0.00001			0.00001			ns	
Conc. Tricho		ns*			ns			ns			0.00002	
Fonte N X Conc Tricho		ns			ns			ns			ns	

Tabela 20: Efeito isolado de massa da raiz e da parte aérea seca (mg/planta) e concentração de Trichobio (ml/kg) , avaliadas em plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14**.

Mariánaia		Fonte de nitrogênio	
Variáveis <u> </u>	0	NO <sub>3</sub> -	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
Massa da raiz seca	729,40 b	1336,90 a	322,81 c
Massa da parte aérea seca	970,56 b	3008,98 a	831,56 b
pH da rizosfera	6,27 a	6,60 a	5,06 b
	(	Concentração de Trichobio	ο
_	0	10	30
Porcentagem de infecção	30,72 b	64,47 a	82,70 a

As médias seguidas da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%



Figura 7: Imagens de raízes de plantas de maracujá (*Passiflora edulis f flavicarpa Deg*), crescidas por 25 dias em solução nutritiva completa com as fontes de nitrogênio sulfato de amônia (A), nitrato (B) e nitrato de amônia (C).

Quando foi utilizado a fonte  $NO_3$ , só ocorreram diferenças significativas entre a concentração 0 e 10mL de Trichobio, e quando foi utilizado  $NH_4$ , as concentrações da testemunha (0) de Tichobio e 10mL não foram diferentes entre si, mais diferiram da concentração de 30mL.

Ainda avaliando a interação efeito das fontes de nitrogênio x concentração de Trichobio, foram observados que sem Trichobio, as fontes de nitrogênio foram diferentes significativamente entre si e o melhor acumulo e a maior concentração de potássio foi avaliado com uso de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Com uso de 10mL de Trichobio, as fontes NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> não foram diferentes entre si e alcançaram as maiores médias e quando foi utilizado 30mL de Trichobio, observa-se que a fonte e NO<sub>3</sub><sup>-</sup> foi diferente estatisticamente das demais com a maior concentração de potássio avaliada e as demais fontes não foram diferentes entre si.

Na análise do efeito significativo de forma isolada de concentração de Trichobio (Tabela 22), quando foi realizado a análise de variância de cálcio, pode-se observar que só ocorreram diferenças significativas entre as concentrações 30ml (com o maior acumulo de cálcio) e 10mL de Trichobio que obteve a menor concentração de cálcio.

Na Tabela 23, estão apresentados os dados da análise de variância das concentrações de nutrientes da parte aérea de plantas de maracujá, podendo ser observado na avaliação do cálcio e fósforo que somente ocorreu efeito significativo estatisticamente da fonte de nitrogênio. Quando foram avaliados as concentrações de magnésio, não ocorreu efeito significativo das variáveis e também da interação entre elas. Na avaliação das concentrações de potássio, ocorreu efeito significativo da fonte de nitrogênio e da interação entre fonte de nitrogênio e concentração de Trichobio.

No desdobramento da interação significativa, avaliando o efeito das concentrações de Trichobio dentro de cada fonte de nitrogênio, verifica-se que sem nitrogênio e com uso de NH<sub>4</sub> ocorreu o mesmo comportamento entre as plantas, sendo observado que não houve diferenças significativas entre as concentrações de Trichobio. Na análise do efeito das fontes de nitrogênio em cada concentração de Trichobio, foram constatados que sem uso de Trichobio e com uso de 10ml do produto, a associação do fungo *Trichoderma* com a fonte NO<sub>3</sub>- foi o tratamento que possibilitou os maiores acúmulos de potássio na parte aérea. Com uso de 30ml de Trichobio, não ocorreram diferenças entre as fontes de nitrogênio.

Na Tabela 24, constam os dados da análise de forma isolada do efeito de fonte de nitrogênio e quando foram avaliados as concentrações de cálcio e fósforo na parte aérea das plantas, assim foi verificado que o comportamento das plantas foi semelhante. Observou-se que sem o uso de nitrogênio e com utilização da fonte NH<sub>4</sub><sup>+</sup> não ocorreram diferenças significativas nas concentrações encontradas, mas estas concentrações foram diferentes significativamente quando foi utilizado a fonte NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

No experimento 14 foi realizado inicialmente a análise de variância individual de cada nutriente, e teve como objetivo avaliar o efeito das fontes de nitrogênio e as concentrações de Trichobio na absorção dos nutrientes pela raiz, bem como sua concentração na raiz e parte aérea das plantas de maracujá. Dessa forma após a primeira análise, foi realizada a segunda analise de variância dos dados, mais desta vez com o objetivo de comparar as concentrações de nutrientes absorvidas entre si.

Tabela 21: Concentração de cálcio, magnésio, fósforo e potássio (g.kg<sup>-1</sup>) em raízes de plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14**.

Conc. Trichobio	Cálcio			Magnésio		Fósforo			Potássio			
(ml/kg solo)	0	NO <sub>3</sub> -	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	NO <sub>3</sub> -	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$
0	9,97	8,63	9,59	2,16	2,88	2,27	10,54	15,90	17,30	5,04 Ac	29,24 Aa	17,83 Ab
10	9,67	8,34	9,42	2,01	2,21	2,39	8,87	12,82	14,51	5,48 Ab	19,67 Ba	18,29 Aa
30	9,39	10,17	11,85	2,27	2,94	2,32	12,86	13,39	9,45	12,55 Ab	25,88 ABa	7,95 Bb
CV%	13.21		23.51		27.35		34.15					
Pr≥F												
Fonte N		ns*			ns			ns			0.00001	
Conc. Tricho	0.03971			ns		ns		ns				
Fonte N X Conc Tricho	ns			ns		ns			0.00157			

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Tabela 22: Efeito isolado da concentração de Trichobio, quando foi avaliado as concentrações de cálcio em raízes de plantas de maracujá (*Passiflora edulis f flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento constante de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14.** 

	Concentração de Trichobio					
	0	10	30			
Concentração de Cálcio	9,39 ab	9,14 b	10,46 a			

As médias seguidas da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Na Figura 8 encontram-se a análise de variância da comparação da concentração dos nutrientes avaliados nas raízes das plântulas de maracujá. Verificou-se que ocorreram efeitos significativos, de forma isolada para nutriente e fonte de nitrogênio, para a interação nutriente X fonte de nitrogênio e fonte de nitrogênio X concentração de Trichobio, e também para a interação tripla entre os parâmetros. Assim analisando os resultados da interação tripla, podese observar que ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as concentrações dos nutrientes avaliados, sendo verificado que o potássio foi o nutriente mais absorvido pelas raízes nos tratamentos sem Trichobio + NO<sub>3</sub>- diferindo significativamente dos demais. O magnésio foi o nutriente menos absorvido.

Na Figura 8, estão apresentados os resultados da análise de variância da comparação da concentração dos nutrientes acumulados na parte aérea das plantas de maracujá. Ocorreram efeitos significativos estatisticamente de forma isolada para nutriente e concentração de Trichobio, na interação dupla nutriente X fonte de nitrogênio e fonte de nitrogênio X concentração de Trichobio e da interação tripla entre os parâmetros. Assim no desdobramento da interação tripla, foi observado que as concentrações de potássio acumulados na parte aérea, diferiram estatisticamente dos demais nutrientes, sendo o nutriente com maior concentração na parte aérea das plantas de maracujá quando estas foram submetidas ao tratamento sem Trichobio + NO<sub>3</sub>- e 10ml de Trichobio + NO<sub>3</sub>-.

Ainda no experimento 14, na Tabela 25 estão as imagens do sistema radicular das plantas de maracujá trinta dias após a inoculação do fungo *Trichoderma* e da aplicação constante de fontes de nitrogênio, e pode-se observar que com a aplicação de NO<sub>3</sub>- ocorreu aumento do número de raízes e com a associação de 30mL de Trichobio + NO<sub>3</sub>- foram observadas maior número de raízes mais finas e de coloração mais clara que nos demais tratamentos.

Tabela 23: Concentração de cálcio, magnésio, fósforo e potássio (g.kg<sup>-1</sup>) em parte aérea de plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14.** 

Conc. Trichobio	Cálcio			]	Magnésio		Fósforo		Potássio			
(ml/ kg solo)	0	NO <sub>3</sub> -	NH <sub>4</sub>	0	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	0	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	0	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>
0	13,02	9,74	11,26	3,16	2,58	2,80	18,73	15,15	18,57	22,32 Ab	59,59 Aa	24,70 Ab
10	11,94	10,68	14,17	2,96	3,04	3,36	17,29	14,79	21,39	26,46 Ab	63,77 Aa	29,67 Ab
30	13,75	11,56	13,23	3,43	3,26	2,96	18,24	15,29	19,91	33,27 Aa	43,24 Ba	32,56 Aa
CV%	15.55		17.82		14.09		20.17					
Pr≥F												
Fonte N	0.00929		ns		0.00022		0.00001					
Conc. Tricho	ns*		ns		ns			ns				
Fonte N X Conc Tricho	ns			ns		ns		0.00306				

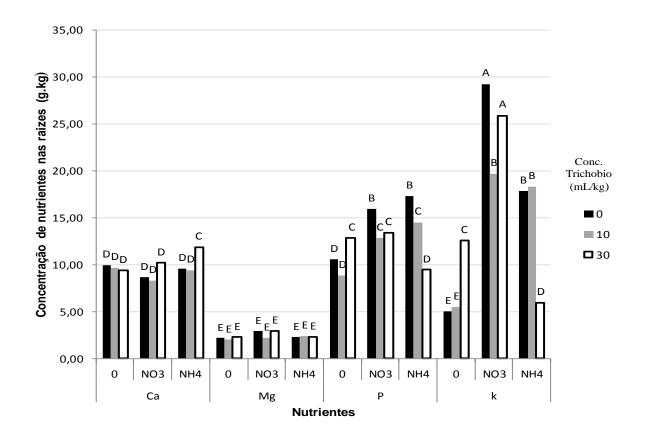
ns\* - não significativo

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Tabela 24: Interação cálcio, magnésio com fonte de nitrogênio quando foi avaliado as concentrações de cálcio e fósforo em parte aérea de plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento constante de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14.** 

Nutriente		Fonte de nitrogênio	
	0	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$
Cálcio	12.90 a	10.66 b	12.80 a
Fósforo	18.09 a	15.07 b	19.95 a

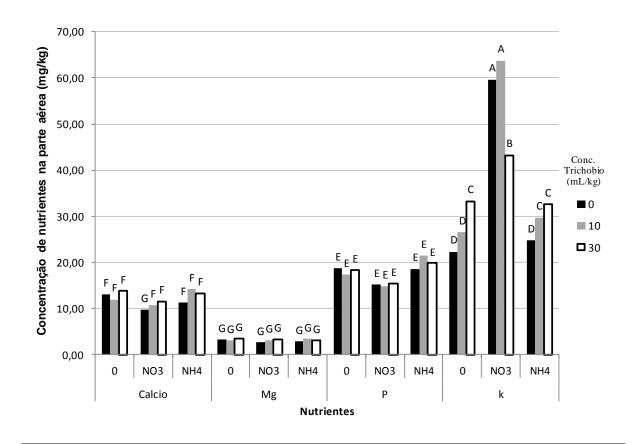
As médias seguidas da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.



Analise de variância da comparação da concentração de nutriente nas raízes					
CV	31.39				
P≥F					
Nutriente	0.00001				
Fonte de nitrogênio	0.00001				
Conc. Trichobio	ns				
Nutriente X Fonte de nitrogênio	0.00001				
Nutriente X Conc. Trichobio	ns				
Fonte de nitrogênio X Conc. Trichobio	0.00002				
Nutriente X Fonte de nitrogênio X Conc. Trichobio	0.00002				

Figura 8: Comparação entre as médias resultantes da interação da concentração de nutrientes x fontes de nitrogênio x contração de Trichobio. Comparação entre as médias foi realizada pelo teste Tukey 5%.

Na parte de baixo da Figura 8, está a análise de variância (**Pr≥F**) da interação fonte de nitrogênio x concentração de Trichobio, para os dados da concentração de cálcio, magnésio, fósforo e potássio (g kg<sup>-1</sup>) em raízes de plantas de maracujá (*Passiflora edulis f flavicarpa Deg*) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento contínuo de fontes de nitrogênio. As médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14**.



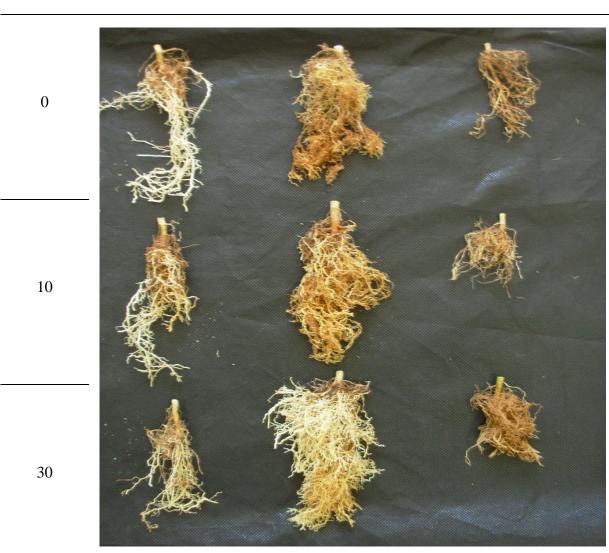
A 1' 1 'A '	1 ~	1 , ~ 1	, • , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
Analice de variancia	i da comparacao (	la concentracao d	e nutriente nas raízes
Ananse de variancia	i da combaracao i	ia concentracao u	c municinc mas raizes

CV %	23.26
P≥F	
Nutriente	0.00001
Fonte de nitrogênio	0.00001
Conc. Trichobio	ns
Nutriente X Fonte de nitrogênio	0.00001
Nutriente X Conc. Trichobio	ns
Fonte de nitrogênio X Conc. Trichobio	0.00210
Nutriente X Fonte de nitrogênio X Conc. Trichobio	0.00001

Figura 9: Comparação dos dados da composição de cálcio, magnésio, fósforo e potássio (g.kg<sup>-1</sup>) em parte aérea de plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. As médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso, ns- não significativo. **Experimento 14**.

Tabela 25: Comparação do sistema radicular de plantas de plantas de maracujá (*Passiflora edulis* f *flavicarpa* Deg) cv FB 200, crescidas em areia lavada com diferentes concentrações de Trichobio e com fornecimento continuo de fontes de nitrogênio. Avaliação realizada 30 dias após o transplante para a vaso. **Experimento 14**.

Conc. Trichobio		Fonte de Nitrogênio (0.:	5mM)
(ml/kg de	0	NO <sub>3</sub> -	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
solo)	S	istema radicular de plantas c	le maracujá



### 4.5 A liberação OH<sup>-</sup> e H<sup>+</sup> na rizosfera, utilizando as fontes nitrogenadas nitrato e amônio, aplicado via foliar, pode alterar esta toxicidade de alumínio e de salinidade nas plântulas

#### 4.5.1 Experimento 15. Teste para verificar se aplicação via foliar (imitando irrigação por aspersão) de fontes de nitrogênio altera o pH da rizosfera de plântulas de café

Na Tabela 26, estão os dados da análise de variância do pH da solução nutritiva onde cresceram plântulas de café que foram submetidas a aplicação foliar de fontes de nitrogênio, e com estes resultados pode-se observar que ocorreu efeito significativo estatisticamente para fonte de nitrogênio, concentração de nitrogênio, e também para a interação entre os parâmetros.

No desdobramento da interação, Tabela 26, quando foi avaliado o efeito das concentrações de nitrogênio em cada fonte de nitrogênio, ficou constatado que a aplicação foliar da fonte NO<sub>3</sub>- aumentou o pH da solução, ocorrendo diferenças significativas entre as concentrações utilizadas e sendo o maior valor de pH verificado com uso da concentração de 10% de nitrogênio na forma de nitrato. Quando foi utilizado NH<sub>4</sub>+ não ocorreu diferenças significativas estatisticamente entre as concentrações. Quando foi avaliado o efeito das fontes de nitrogênio em cada concentração de N, observou-se que sem nitrogênio, o pH ficou abaixo de 4 e não ocorreram diferenças entre as fontes. Já nas concentrações 5 e 10% de N foram avaliados os mesmos resultados e o pH da solução com uso da fonte NO<sub>3</sub>- foi diferente estatisticamente da fonte NH<sub>4</sub>+, sendo observado que a pulverização foliar do nitrato aumentou o pH da solução nutritiva e o sulfato de amônia abaixou o pH.

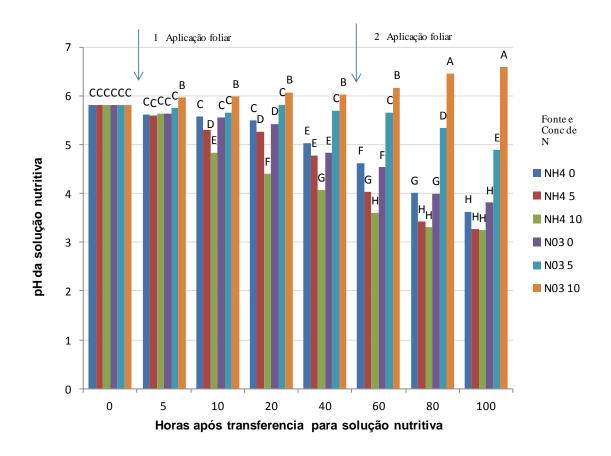
No experimento 15 também foi realizada outra análise de variância dos dados, que teve como objetivo fazer a comparação entre os períodos de avaliação, como também avaliar a duração dos efeitos da aplicação foliar de nitrogênio na manutenção do pH da solução nutritiva (Tabela 27). Assim pode ser observado na análise de variância da Figura 10 que ocorreu efeito significativo estatisticamente para fonte de nitrogênio, concentração de nitrogênio e tempo de avaliação, ocorreu também efeito da interação dupla entre fonte de nitrogênio X concentração de nitrogênio, fonte de nitrogênio X tempo avaliação e concentração de nitrogênio X tempo de avaliação e também da interação tripla fonte de nitrogênio X concentração de nitrogênio X tempo de avaliação.

Na análise da interação tripla (Figura 10), pode ser observado que ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre os tratamentos realizados e após de 100hs da primeira aplicação foliar de nitrogênio, as plantas que receberam 10% de NO<sub>3</sub> tiveram o maior aumento de pH da solução nutritiva e as plantas que receberam 5 e 10% de NH<sub>4</sub> apresentaram as maiores reduções nos menores valores de pH. Na Figura 10, também podem ser analisados os efeitos da duração da aplicação foliar das fontes de nitrogênio, sendo observado que após 48hs da primeira aplicação na concentração de 10% de nitrato, ainda continuou aumentando o pH da solução. A concentração de 5 e 10% de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> durante o mesmo período continuaram a redução do pH da solução. Nas plantas que não receberam aplicação de fonte de nitrogênio também ocorreu redução do pH da solução e nas plantas que receberam 5% de nitrato não ocorreu mudanças significativas do pH da solução.

Tabela 26: Valores do pH da solução nutritiva de plantas de café (*Coffea arabica* L) cv Catuai Amarelo, crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e após a aplicação foliar de fontes de nitrogênio. **Experimento 15**.

Concentração de nitrogênio	Fonte de nitrogênio				
(%)	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$			
0	3,80 Ca	3,63 Aa			
5	4,89 Ba	3,26 Ab			
10	6,58 Aa	3,24 Ab			
CV	15	.70			
P≥F					
Fonte de N	0,00001				
Conc de N	0,00001				
Fonte de N X Conc de N	0,00001				

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.



Analise de variância	
CV%	9.98
P≥F	0,00001
Horas da avaliação	0,00001
Fonte de nitrogênio	0,00001
Concentração de nitrogênio	0,00001
Horas da avaliação X Fonte de nitrogênio	0,00001
Horas da avaliação X Concentração de nitrogênio	0,00001
Fonte de nitrogênio X Concentração de nitrogênio	0,00001
Horas da avaliação X Fonte de nitrogênio X Concentração de nitrogênio	0,00001

Figura 10: Valores do pH da solução nutritiva da comparação do tempo de avaliação, fonte de nitrogênio e concentração de nitrogênio em plantas de café (*Coffea arabica* L) cv Catuai Amarelo, crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e após a aplicação foliar de fontes de nitrogênio. Medias seguidas da letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Setas indicam a aplicação foliar de nitrogênio. **Experimento 15**.

A segunda aplicação foliar de nitrogênio foi realizada 48hs após a primeira aplicação, e foi observado que as plantas que receberam 10% de nitrato nas folhas mantiveram o aumento significativo do pH da solução. Nas plantas que receberam 5 e 10% da sulfato de amônio e nas plantas que não receberam nitrogênio nas folhas, o pH da solução continuou diminuindo significativamente. Quando foram avaliadas as plantas que receberam 5% de nitrato, verificou-se que a segunda aplicação desta concentração não aumentou o pH da solução e foi ocorrendo redução dos valores de pH.

No experimento 15, após as aplicações de foliar das fontes de nitrogênio foram sendo realizadas as avaliações visuais das folhas das plântulas de café. Na Figura 11, pode-se verificar que após 100hs, as concentrações de nitrato utilizadas não causaram lesões nas folhas, apenas foi observado uma leve camada branca sobre as folhas. Já nas plantas submetidas às aplicações de sulfato de amônia, foram observado surgimento de lesões 20hs após a primeira aplicação de nitrogênio nas duas concentrações utilizadas, e após a segunda aplicação até 100hs, estas lesões aumentaram de tamanho nas folhas das plantas pulverizadas com 10% de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Na Figura 12, ainda no experimento 15, pode ser observado o resultado da utilização do corante bromocressol púrpura diluído em Agar, que foi utilizado para verificar o tempo de mudança do pH da rizosfera por meio da mudança da coloração do Agar quando as plântulas de café foram submetidas à aplicação foliar de nitrogênio, verificou-se que as plantas que foram pulverizadas com Nitrato na dosagem de 10% (Figura 12-C) ocorreu a mudança da coloração do Agar na rizosfera, inicialmente estava rosa e passou para vermelho, evidenciando o aumento do pH nesta região. Nas plantas que foram aplicado 10% de sulfato de amônia (Figura 12-F) também ocorreu mudança do pH do Agar que estava rosa e foi para amarelo, indicando a redução do pH da rizosfera após a pulverização. Na dosagem de 5% de nitrato (Figura 12-B) iniciou a mudança de rosa para vermelho, mais com o passar de tempo virou para uma tonalidade rosa claro que chegaria ao amarelo, indicando que o pH subiu instantes após a aplicação foliar, mas com o passar do tempo foi reduzindo novamente. Já nas plantas com aplicação da dose de 5% de NH<sub>4</sub>+ (Figura 12-E) a coloração do Agar após a aplicação foi tendendo a tonalidade rosa claro para o amarelo e o mesmo ocorreu nas plantas sem a aplicação de nitrogênio (Figura 12- A e D).



Figura 11: Fotos de folhas de plantas de café (Coffea~arabica~L) var Catuai amarelo, 100hs após a aplicação foliar de nitrato( $KNO_3$ ) (A, B, C) e sulfato de amônia ( $(NH_4)_2.SO_4$ ) (D, E e F) em concentrações de 0, 5 e 10%. **Experimento 15**.

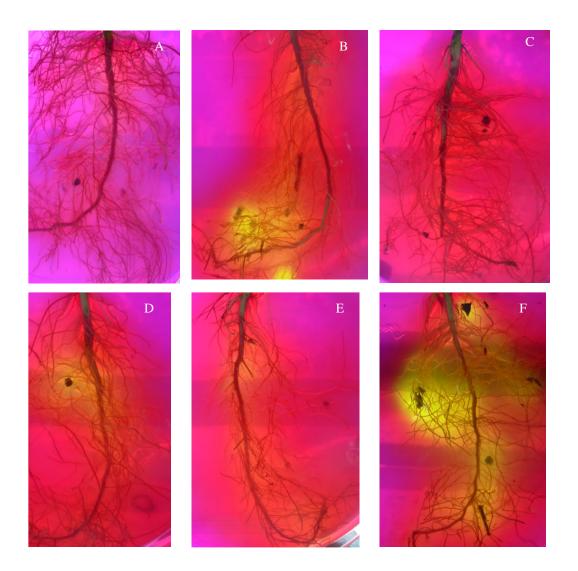


Figura 12: Sistema radicular de plantas de café (*Coffea arabica* L.) var Catuai amarelo, 48hs serem fixadas em placa de petri com solução de Agar mais bromocressol purpura, e submetidas a aplicação foliar de nitrato (KNO<sub>3</sub>) (A, B, C) e sulfato de amônia ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.SO<sub>4</sub>) (D, E e F) em concentrações de 0, 5 e 10% respectivamente. **Experimento 15**.

### 4.5.2 Experimento 16. Teste para verificar se a aplicação via foliar de fontes de nitrogênio em plântulas de café, aplicado através da embebição das folhas em solução de nitrogênio altera o pH da solução

No experimento 16 as plântulas de café tiveram uma das folhas submersas em solução com diferentes concentrações de fontes de nitrogênio e as raízes foram crescidas em solução nutritiva completa e onde foram avaliados as mudanças no pH da solução de crescimento. Na Tabela 27, pode ser observados os dados da análise de variância do pH da solução e podese observar que ocorreram efeitos significativos estatisticamente e de forma isolada para a fonte de nitrogênio e a concentração de nitrogênio, mas a interação entre eles não foi significativa. Na avaliação do efeito isolado de fonte de nitrogênio (Tabela 28) observou-se que não ocorreram diferenças significativas entre as fontes de nitrogênio utilizadas, o mesmo resultado também foi observado na avaliação do efeito isolado de concentração de nitrogênio em que não ocorreram diferenças significativas entre as concentrações.

Ainda no experimento 16, na Figura 13 estão as imagens das folhas das plantas de café 20hs após ter sido submersas nas soluções de nitrogênio, e pode ser observado que as planta nas concentrações com 10% de nitrato (13 E) e 10% de sulfato de amônia (13 F) apresentam-se com a maior parte da área foliar lesionada, e nas concentrações de 5% de nitrato (13 C) foram observadas lesões pequenas e nas folhas das plântulas mergulhadas em 5% de sulfato de amônia (13 D) podem ser vistas um maior número de lesões.

Tabela 27: Interação de fonte de nitrogênio x concentração de nitrogênio dos dados do pH da solução nutritiva com plantas de café (*Coffea arabica* L) cv Catuai Amarelo, crescidas por 30hs em solução nutritiva completa. **Experimento 16**.

Concentração de nitrogênio	Fonte de	nitrogênio
(%)	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$
0	5,03	5,27
5	5,24	5,38
10	5,35	5,41
CV %	1	.42
P≥F		
Fonte N	0.0	0014
Conc de N	0,0	0003
Fonte N X Conc de N		ns

Medias seguida da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 28: Efeito isolado da fonte de nitrogênio e concentração de nitrogênio no pH da solução nutritiva de plantas de café (*Coffea arabica* L) cv Catuai Amarelo. **Experimento** 16.

		Fonte de nitrogênio		
	$NO_3^-$		$\mathrm{NH_4}^+$	
pH da solução	5,21 a	5,36 a		
nutritiva	Con	ncentração de nitrogên	io (%)	
	0	5	10	
	5,15 a	5,31 a	5,38 a	

Medias seguida da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.



Figura 13: Fotos do estádio visual de folhas de plântulas de café arábica var Catuai Amarelo, 30 h após serem submersas nas fontes de nitrogênio nitrato (KNO $_3$ ) (A, C e F) e sulfato de amônia ((NH $_4$ ) $_2$ .SO $_4$ ) (B, D e F) em concentrações de 0, 5 e 10% respectivamente, para o fornecimento constante de nitrogênio. **Experimento 16.** 

# 4.5.3. Experimento 17. Aplicação foliar de nitrogênio via pulverização x Alumínio x plântulas de Café.

Na Tabela 30, estão os resultados da análise de variância do comprimento radicular, diâmetro do ápice da raiz principal e do pH da solução nutritiva, que foram obtidos no experimento 17. Neste estudo realizou-se pulverização foliar com nitrogênio em plântulas de café com 30 dias de germinação que foram posteriormente transferida para a solução nutritiva completa com diferentes níveis de alumínio. A fonte de nitrogênio influenciou de forma significativa o comprimento radicular, mas as não ocorreu efeito da interação entre os parâmetros testados, diâmetro da ápice da raiz e pH da solução nutritiva. O diâmetro da raiz principal não sofreu influência de nenhum parâmetro testado. Já o pH da solução foi influenciada pela fonte de nitrogênio, concentração de alumínio e ocorrendo interação significativa entre estes fatores.

Na Tabela 31 encontra-se o desdobramento da interação significativa entre fonte de N e concentração de alumínio. Pode ser verificado que só ocorreu diferenças nos valores de pH no tratamento em que não foi adicionado alumínio, sendo o maior valor de pH na fonte nitrato. Pode ser observado que as concentrações de alumínio exerceram um poder tampão na solução não permitindo que ocorressem diferenças entre os tratamentos.

Na avaliação do efeito isolado da fonte de nitrogênio no comprimento radicular das plântulas de café (Tabela 32), pode ser observado que a fonte NO<sub>3</sub> influenciou mais significativamente o comprimento radicular, aumentando o comprimento.

Tabela 30: Comprimento radicular (mm), diâmetro do ápice (mm) da raiz principal e pH da da solução nutritiva de crescimento de plantas de cafe (*Coffea arábica* L) cv Catuai Amarelo, que receberam via foliar diferentes concentrações de fontes de nitrogênio, quando crescidas com diferentes concentrações de alumínio no substrato. Avaliação realizada por 168 h após o transplante para o vaso. **Experimento 17**.

Concentração de		Compr	rimento	radicu	lar (mn	n)		Diân	netro de	o ápice	(mm)			pН	da solu	ção nut	ritiva	
Alumínio (µM)								Font	te de ni	trogêni	o (%)							
7 παπιπο (μπ)		$NO_3$			NH <sub>4</sub>	+		$NO_3^-$			$NH_4^+$			$NO_3$			$NH_4^+$	
								Concer	ntração	de nitro	ogênio							
	0	5	10	0	5	10	0	5	10	0	5	10	0	5	10	0	5	10
0	88,49	88,35	89,10	82,93	80,74	76,64	0,54	0,56	0,65	0,58	0,72	0,54	4,18	4,25	4,47	3,44	3,73	3,86
250	84,99	85,31	79,84	85,10	85,30	69,57	0,67	0,67	0,65	0,72	0,67	0,71	4,32	4,64	4,50	4,38	4,18	4,14
500	82,29	81,51	73,83	81,69	72,02	75,72	0,75	0,70	0,71	0,75	0,61	0,59	4,25	4,55	4,40	4,35	4,21	4,21
2000	80,67	84,41	88,00	86,68	66,60	72,95	0,68	0,78	0,67	0,73	0,74	0,60	4,17	4,27	4,28	4,27	4,22	4,22
CV%		,		5,71		7	- 7			5,49		,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	,			,97		
P≥F																		
Fonte N			0,0	3590					1	ns					0,0	0150		
Conc N				ns					1	ns					1	ns		
Conc Al				ns					1	ns					0,0	0460		
Fonte N X Conc N				ns					1	ns					j	ns		
Fonte N X Conc Al				ns						ns						4110		
Conc N X Conc Al				ns					1	ns					,	ns		
Fonte N X Conc N X Conc AL				ns						ns						ns		

Tabela 31: Efeito da interação significativa entre fonte de nitrogênio x concentração de alumínio no pH da solução nutritiva com plantas de cafe (*Coffea arabica L*) cv Catuai Amarelo. Avaliação realizada por 168 hs após o transplante para a vaso. **Experimento 17**.

Concentração de	Fonte de 1	nitrogênio
Alumínio (μM)	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$
0	4.48 Aa	3.67 Bb
250	4.29 Aa	4.23 Aa
500	4.39 Aa	4.25 Aa
2000	4.24 Aa	4.25 Aa

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Tabela 32: Efeito isolado da fonte de nitrogênio no comprimento radicular de plantas de café (*Coffea arabica* L) cv Catuai Amarelo, crescidas em solução nutritiva. Avaliação realizada por 168 hs após o transplante para a vaso. **Experimento 17.** 

	Fonte de	nitrogênio
Comprimento – radicular (cm)	NO <sub>3</sub> -	$\mathrm{NH_4}^+$
-	88,89 a	77,99 b

As médias seguidas da mesma letra, minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

# 4.5.4 Experimento 18. Aplicação foliar de nitrogênio com nitrato via pulverização x Alumínio x plântulas de girassol

No experimento 18 as sementes de girassol foram plantadas em solo acidificado com alumínio e após a germinação foram realizadas aplicações foliares da fonte de nitrogênio nitrato para verificar o desenvolvimento das plantas nestas condições. Quando foi avaliado o comprimento radicular das plantas de girassol, observou se que somente ocorreu efeito significativo da concentração de alumínio e da interação entre cultivares e concentração de alumínio (Tabela 33). Na avaliação da massa da raiz seca, apenas ocorreu efeito significativo estatisticamente de cultivares e concentração de alumínio e também na interação entre cultivares e concentração de alumínio. Quando foi avaliada a massa da parte aérea seca o efeito significativo só foi verificado para cultivar e concentração de alumino. Na Tabela 34, nos resultados da análise de variância do pH da rizosfera, pH do solo e comprimento de parte aérea, verificou-se que só ocorreu efeito significativo estatisticamente e de forma isolada da concentração de alumínio.

No desdobramento da interação significativa (Tabela 35) entre cultivar e concentração de alumínio quando foi avaliado o comprimento radicular, observou-se na análise do efeito de cada concentrações de alumínio no desenvolvimento das cultivares, que as plantas das cultivares Helio 250 e 253 tiveram comportamento semelhante, alcançando maior comprimento radicular nas concentrações 0 e 1500 kg.ha e estes foram diferentes significativamente quando as plantas cresceram com 4500kg.ha de alumínio. Quando foi comparado as cultivares em cada concentração de alumínio, observou-se que nas concentrações 0 e 4500 kg há, as cultivares não foram diferentes, já na concentração 1500kg.ha a cultivar Helio 250, diferiu significativamente da cultivar Helio 253 que teve a menor comprimento radicular. Ainda no experimento 18 e avaliando o desdobramento da interação significativa entre cultivar e concentração de alumínio ocorrido na análise da massa da raiz seca, verificou-se quando foi avaliado o efeito das concentrações de alumino nas cultivares, que na cultivar Helio 250 não ocorreram diferenças na massa de raiz entre as concentrações de alumínio e já na cultivar Helio 253, as massas avaliadas nas concentrações 0 e 1500kg.ha foram diferentes significativamente da concentração 4500kg.ha. Ainda avaliando o desdobramento, mais agora analisando a comparação das cultivares em cada concentração de alumínio, verifica-se que nas concentração 0 e 1500kg.ha a cultivar Helio 253 obteve o maior acúmulo de massa e foi diferente significativamente da cultivar Helio 250. Na concentração 4500kg,ha as cultivares não foram diferentes entre si.

Na análise dos resultados da massa da parte aérea seca, na avaliação do efeito isolado de cultivares de girassol (Tabela 35), a cultivar Helio 253 teve maior acumulo de massa e diferiu da cultivar Helio 250. Na avaliação do efeito isolado de concentração, ocorreu diferenças significativas entre as concentrações, observando redução do acumulo de massa com o aumento da concentração de alumínio.

No experimento 18, na análise do efeito isolado de concentração de alumínio ocorrido com a avaliação do pH da rizosfera, observa-se o maior pH da rizosfera nas plantas crescidas sem alumínio e este foi diferente significativamente das demais que também foram diferentes entre si. Na avaliação do efeito da concentração de alumínio ocorrido no pH do solo, o maior pH foi avaliado com zero de alumínio e este diferiu das demais que não diferiram entre si.

Tabela 33: Comprimento radicular (cm), massa da raiz (mg planta) e parte aérea (mg planta) seca de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em diferentes concentrações. Avaliação realizada por 30 dias após a semeadura no vaso. **Experimento 18.** 

	Com	primento	radicular	(mm)		Massa da 1	aiz seca (m	g)	Ma	ssa da parte	aérea seca	(mg)
						Cultiv	ares de gira	ssol				
Concentração de Alumínio (kg.ha)	Heli	o 250	Heli	o 253	Hel	io 250	Heli	io 253	Heli	o 250	Heli	lo 253
Mullimo (kg.lia)						Concer	tração de K	NO <sub>3</sub>				
	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
0	19,64	19,73	19,38	21,51	45,75	80,50	128,13	101,88	551,88	631,00	890,50	851,63
1500	25,36	21,46	18,28	17,65	44,50	49,63	81,13	98,25	475,00	582,75	682,13	797,13
4500	3,30	5,55	5,40	5,45	47,50	46,38	45,88	35,88	65,50	115,13	182,00	209,50
CV%	22,02				45,94				20.83			
P≥F												
Cult		1	ns			0,0	00210			0,0	0001	
Conc N		1	ns				ns			1	ns	
Conc Al		0,0	0001			0,0	00090			0,0	0001	
Cult X Conc N		1	ns				ns			1	ıs	
Cult X Conc Al		0,0	1460			0,0	)2540			1	ıs	
Conc Al X Conc N		1	ns				ns			1	ıs	
Cult X Conc N X Conc Al		1	ns				ns			1	ıs	

Tabela 34: Valores de pH da rizosfera e do solo e comprimento de parte aérea de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em diferentes concentrações. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura no vaso. **Experimento 18**.

		pH da	rizosfera			pН с	la solo		Con	nprimento	de parte aér	ea seca
Q						Cultiva	res de giras	sol				
Concentração de Alumínio (kg.ha)	Heli	io 250	Hel	io 253	He	lio 250	Hel	lio 253	Heli	o 250	Heli	o 253
Alumino (kg.na)						Concent	ração de Kl	$NO_3$				
	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
0	4,97	4,97	4,89	4,97	5,17	5,23	5,17	5,09	47,16	46,38	46,750	45,563
1500	4,27	4,35	4,24	4,20	4,36	4,37	4,32	4,31	40,88	49,00	44,938	46,000
4500	3,80	3,72	3,77	3,69	3,90	3,84	3,85	3,84	15,23	13,88	18,750	21,625
CV%	2,43				1,99				10.51			
P≥F												
Cult			ns				ns				ns	
Conc N			ns				ns				ns	
Conc Al		0,0	0001			0,0	0001			0,	00001	
Cult X Conc N			ns				ns				ns	
Cult X Conc Al			ns				ns				ns	
Conc Al X Conc N			ns				ns				ns	
Cult X Conc N X Conc Al			ns				ns				ns	

Na avaliação de efeito isolado de concentração de alumínio no estudo do comprimento de parte aérea, verifica-se que com 0 e 1500kg.ha de alumínio não ocorreu diferença no acúmulo de massa das plantas.

Na avaliação da elongação radicular relativa (Figura 14) realizada nas plantas de girassol no experimento 18, verifica-se que sem aplicação foliar de nitrato ocorreu a maior elongação radicular nas plantas da cultivar Helio 250 que cresceram com 1500kg.ha de alumínio. Podendo ser destacado ainda que a aplicação de 10% de nitrato nas plantas da cultivar Helio 250 gerou elongação acima de 100% indicando efeito benéfico da aplicação foliar nesta concentração. Na concentração 4500kg.ha de alumínio não ocorreu crescimento das cultivares.

Tabela 35: Desdobramento da interação significativa entre cultivar e concentração de alumínio quando foram avaliados o comprimento radicular e a massa da raiz seca de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em diferentes concentrações. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura no vaso. **Experimento 18**.

Concentração -	Comprimen	to radicular	Massa d	la raiz seca					
de Alumínio		Cultiv	vares de girassol						
(kg ha)	Helio 250	Helio 253	Helio 250	Helio 253					
0	19,68 Aa	20,40 Aa	63,12 Ab	115,00 Aa					
1500	23,41 Aa	17,96 Ab	47,06 Ab	89,68 Aa					
4500	4,42 Ba	5,42 Ba	46,93 Aa	40,87 Ba					
		Cultiv	vares de girassol						
_	Н	elio 250	Не	lio 253					
Massa da parte	4	03,54 b	60	)2,14 a					
aérea seca	Concentração de alumínio								
<del>-</del>	(	)	1500	4500					
_	731,	25 a	634,25 b	143,03 с					
		Concen	tração de alumínio						
	(	)	1500	4500					
pH da rizosfera	4,9	2 a	4,26 b	3,74 с					
pH do solo	5,1	6 a	4,34 b	3,85 b					
Comprimento de parte aérea		46 a	45,20 a	17,36 b					

As médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

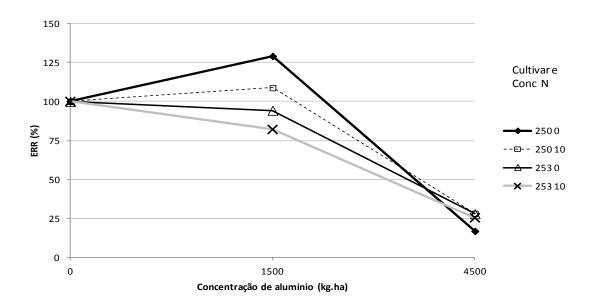


Figura 14: Elongação radicular relativa (ERR%) de plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) cv Helio 250 e Helio 253, crescidas em solo com diferentes concentrações de alumínio e com aplicação foliar de fonte de nitrogênio em concentrações 0 e 10%. Avaliação realizada 30 dias após a semeadura no vaso. **Experimento 18.** 

# 4.5.5. Experimento 19. Aplicação foliar de nitrogênio via pulverização x Sal x plântulas de girassol.

No experimento 19 as sementes de girassol foram plantadas em solos salinizados com NaCl com posterior aplicação foliar de nitrogênio. Mas para este estudo as concentrações de sal utilizadas a afetaram a germinação das sementes de girassol, e como só ocorreu germinação nos vasos sem NaCl, desta maneira a falta de plântulas normais prejudicam a realização do tratamento com aplicação de nitrogênio foliar.

Portanto a utilização de espécies que necessitam de semeadura direta no substrato para obtenção de plântula, podem dificultar o estudo de metodologias que necessitam de plântulas, como neste caso, que a metodologia seria testada para verificar se a aplicação foliar de fonte de nitrogênio melhoraria o desenvolvimento de plantas em solos salinos. Mas as vezes a espécies estuda não consegue germinar acima de determinadas concentrações de sal presente no substrato.

## 4.5.6. Experimento 20. Aplicação foliar via submersão das folhas em nitrogênio x Alumínio x mudas de Sombreiro.

No experimento 20, as plantas de sombreiro após sofrerem a poda da parte superior da copa, tiveram uma folha submersa constantemente em solução composta de diferentes tratamentos com fonte de nitrogênio e concentração de alumínio. Neste experimento com uma espécie arbórea, o objetivo foi avaliar o efeito do nitrogênio e do alumínio no desenvolvimento da planta após retirada da copa.

Assim na Tabela 36 estão a análise de variância dos dados de massa de raiz, caule, folha e brotações secas e também comprimento e número de brotações, e pode-se verificar que para todos os parâmetros avaliados que não ocorreu efeito significativo estatisticamente de tratamento.

Tabela 36: Massa de raiz, do caule, da folha e das brotações secas (mg) e do comprimento (mm) e do número da brotações de plantas de sombreiro (*Clitoria fairchildiana* Howard), crescidas por 15 dias em solo e as folhas mergulhadas em solução de nitrogênio e alumínio. **Experimento 20**.

		Massa se	eca (mg)	Compriment	Número de	
Tratamentos	Raiz	Caule	Folha	Brotaçõe s	o de brotações	brotações
Testemunha	9302,50	11481,50	4430,00	49	20,755	25
500mM Al	12393,00	15963,50	7095,00	361	68,995	37,5
10% NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	15220,00	16515,50	7401,00	799	86,91	87,5
500mM Al <sup>+</sup> 10% NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	12434,50	10947,00	4637,50	648,5	31,73	37,5
CV%	42,19	30,53	47,16	75,31	102,02	73,03
P≥F						
Tratamentos	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Medias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

## 4.5.7 Experimento 21. Aplicação foliar via submersão das folhas em nitrogênio x Alumínio x mudas de Amendoeira.

No experimento 21, plântulas de amendoeira foram transplantadas para solução nutritiva com diferentes concentrações de alumínio e tiveram parte das folhas submersas constantemente em solução de fonte de nitrogênio, para verificar as mudanças no pH da solução nutritiva. Na Tabela 37, observa-se os resultados da análise de variância quando foi analisado o pH da solução nutritiva, e pode-se observar que ocorreu efeito significativo e de fonte de nitrogênio e concentração de alumínio, mas a interação entre estes dois parâmetros foi não significativa.

Na análise do efeito isolado de fonte de nitrogênio (Tabela 38), não ocorreram diferenças significativas estatisticamente entre as fontes. Da mesma forma quando foi avaliado o efeito de concentração de alumínio, também não ocorreram diferenças significativas entre os valores de pH com as concentrações de alumínio utilizadas.

Tabela 37: Valores do pH da solução nutritiva de plantas de amendoeira (*Terminalia catapa* L.), crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e com as folhas mergulhadas em solução de fontes e concentrações de nitrogênio. **Experimento 21**.

Concentração AICI (M)	Fonte de	nitrogênio
Concentração AlCl <sub>3</sub> (μM)	$NO_3^-$	$\mathrm{NH_4}^+$
0	4,62	4,84
300	4,26	4,26
600	4,13	4,46
1200	3,95	4,05
CV%	5	5,96
P≥F		
Fonte N	0,0	04814
Conc Al	0,0	00009
Fonte N X Conc Al		ns

Medias seguidas da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 38: Efeito isolado de fonte de nitrogênio e concentração de alumínio quando foi avaliado o pH da solução nutritiva de plantas de amendoeira (*Terminalia catapa* L), crescidas por 100hs em solução nutritiva completa e com as folhas mergulhadas em solução de fontes e concentrações de nitrogênio. **Experimento 21.** 

	Fonte de nitrogênio								
-	NO	O <sub>3</sub> -	NI	$H_4^+$					
	4,2	3 a	4,4	10 a					
pH da solução nutritiva		Concentração	o de alumínio						
-	0	300	600	1200					
-	4,73 a	4,26 a	4,29 a	3,99 a					

Medias seguidas da mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

## 5 DISCUSSÃO

Nos últimos anos, a despeito dos avanços ocorridos na área de genética, biologia molecular e bioquímica, não são muitos os avanços no campo do manejo e adubação de plantas cultivadas. A fertilização através do uso da água de irrigação, apesar de moderna, baseia-se nos mesmos princípios de nutrição mineral já conhecidos desde o século 19 ou de uma maneira mais conservadora, voltando aos Gregos. A proposta principal desde trabalho foi usar o nitrogênio como técnica de manejo para mudar o pH do meio de crescimento e daí consequentemente, alterar a absorção e até mesmo metabolismo de outros nutrientes.

As fontes nitrogenadas amônia, nitrato e nitrato de amônia foram utilizados neste trabalho como um instrumento para liberar OH ou H na rizosfera, na solução do solo ou solução nutritiva. É bem fundamentado na literatura que o nitrogênio inorgânico é o principal regulador das alterações do equilíbrio intracelular acido base que ocorre durante o crescimento das plantas (Raven & Smith, 1976; Raven, 1988; Raven et al., 1991).

Estas fontes foram então utilizadas então para alterar o pH do meio, especialmente o pH da rizosfera, região principal da absorção de nutrientes e aproximação de microrganismos na raiz. As plantas de Girassol, Maracujá, Café, Sobreiro e Oitis foram utilizadas neste estudo, e foram selecionadas por sua importância comercial e paisagística, bem como pela falta de estudos envolvendo nitrogênio e balanço iônico. Foram escolhidos estudar os efeitos fitotóxicos de alumínio e da salinidade como objeto direto da interação pH da rizosfera com a toxicidade.

# 5.1 Seleção de plantas de Girassol tolerantes ao alumínio - Tolerância de plantas de café ao alumínio

Na literatura, podem ser encontrado trabalhos sugerindo que o comprimento radicular pode ser utilizado para o processo de seleção de plantas tolerantes ao alumínio (Garland-Campbell & Carter 1990; Vasconcelos et al., 2002). No experimento 1 e ao longo de todo o trabalho o comprimento radicular da raiz principal foi considerado o parâmetro mais importante no processo de seleção de cultivares tolerantes ao alumínio, como já relatado por outros autores (Silva, 2009).

Neste trabalho encontrar a faixa de toxidez ao alumínio só foi possível utilizando a acidificação artificial proposta (Polese 2013), que aplicou sulfato de alumínio no solo para obter niveis de pH que favoraveis a disponibilidade de alumínio na solução do solo. Da mesma forma aplicamos NaCl no solo para conseguir os níveis de salinidade adequados para selecionar plantas tolerantes (Esteves e Suzuki 2008).

## 5.2 Interação entre fontes de nitrogênio x alumínio em Girassol e Abacaxi

A interação entre fontes de nitrogênio x alumínio foi estudada na cultivar de Girassol Hélio 360, cultivar está selecionada anteriormente como medianamente tolerante ao alumínio. Os resultados encontrados no experimento 9, indicaram que as adubações com as fontes nitrogenadas não alteraram a toxicidade do alumínio. Estes resultados estão de acordo com os obtido para feijão por Jacob-Neto (1993). Os mesmos resultados foram encontrados para *Glycine max*, *Hordeum vulgaris andPhaseolus vulgaris* (Foy et al., 1972; Foy, 1974; Mugwira & Patel, 1977). Entretanto, foi encontrado efeito para *Secale* 

cereale e *Triticum aestivum* L (Dodge & Hiatt, 1972; Mugwira & Patel, 1977; Taylor & Foy, 1985). Vale ressaltar entretanto, que este presente experimento foi instalado em solo que naturalmente possui efeito tamponador, podendo ter amenizado o efeito do OH<sup>-</sup> ou H<sup>+</sup>, devido a sua complexação (MACEDO, 2010). Embora deva ser considerado que ocorreu aplicações parceladas de nitrogênio durante o crescimento e desenvolvimento da planta de girassol, as avaliações foram realizadas 10 dias após a aplicação da última dosagem de nitrogênio, o que pode também ter prejudicado a influência da liberação de OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> na rizosfera.

O efeito da toxidez do alumínio encontrado na cultivar de Girassol está de acordo a literatura (HUNGARO et al., 1983). Embora deva ser levado em consideração que pode ter havido efeito direto do Al ou da acidez induzida pelas dosagens no meio de crescimento. A fonte nitrogenada não alterou demasiadamente o pH da rizosfera, embora tenha ocorrido a concordância com a literatura científica. Outro fator a ser considerado é que o pH foi rebaixado de forma artificial utilizando o método proposto por Polese (2013), o que pode ter alterado as propriedade químicas do solo.

No experimento com mudas de Abacaxi tipo filhote (experimento 10) vale ressaltar que antes da transposição para a solução nutritiva foram retiradas todas as raízes presentes. Desta forma, as plantas entraram em contato com a fonte de nitrogênio e com alumínio no momento da transposição. Neste experimento também pode ser observado que as plantas sem adição de nitrogênio tendem a produzir mais raízes que plantas sem nitrogênio. Dentro das fontes de nitrogênio, as elevações da concentrações de alumínio diminuíram o crescimento radicular, como ocorreu para Girassol. Entretanto, quando se analisa a interação fonte de nitrogênio x concentração de alumínio, verifica-se que a fonte nitrato diminuiu a toxidez do alumínio, não havendo a diminuição do comprimento radicular em função do aumento das doses de alumínio. A fonte amônio até aumentou o comprimento radicular em doses menores de alumínio.

O resultado positivo com o nitrato não foi encontrado para as plantas de Girassol como relatado no experimento 11 e nem com feijão como relatado por Jacob-Neto (1993). A fonte de nitrogênio NH<sup>+</sup>4, na dosagem de 75 µM de alumínio até estimulou o comprimento radicular das plantas de Abacaxi, isto pode ter pode ter ocorrido devido a uma possível formação de uma "nuvem de carga positiva" na rizosfera da plantas, diminuindo a toxidez ao alumínio por competição de sítios de adsorção.

A fonte NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> devido as plantas absorverem cargas equilibradas e processar seu equilíbrio eletroquímico liberando OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> de forma equivalentes, geralmente não alteram seu comportamento em relação a presença de alumínio, ficando a sua tolerância só dependente de sua carga genética, isto ficou claro pelos dados do experimento 10 com mudas de abacaxi. São escassos na literatura os estudos que envolvem toxidez de alumínio em abacaxi (LE VAN & MASUDA (2004), especialmente utilizando a muda tipo filhote. Também não foram encontrados trabalhos que relacionam fonte de nitrogênio e alumínio. Os dados do presente trabalho sugerem que concentrações de alumínios igual ou superior a 75μM, diminuíram o crescimento das raízes e a sua massa seca. LE VAN & MASUDA (2004) relataram que só acima da concentração de 200μM é que ocorreu toxidez.

#### 5.3 Seleção de cultivares de girassol tolerantes a salinidade

No início dos estudos com salinidade, ficou claro, que haveria dificuldade metodológicas de se encontrar solos com diferentes percentuais de sal na nossa região. Isto seria necessário, pois um dos objetivos seria desenvolver técnicas que amenizassem

a toxidez de sais associando a cultivares e a extrusão de OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>. A opção encontrado foi utilizar a salinização artificial utilizando as técnicas propostas por Munns (2002 e 2008) adicionando NaCl. A partir daí foram testadas várias cultivares de Girassol utilizando condutividades elétricas que variaram da faixa natural do solo testado até condutividade de 23 dS.m<sup>1</sup>. Várias dificuldades metodológicas foram encontradas nos experimentos (3 a 8), devido à interação entre o processo de germinação e a concentração de sais do solo no momento da germinação.

Com as concentrações salinas acima de 2,4 dS.m1, as sementes de Girassol não germinaram, só com concentrações abaixo desde valor foi possível ocorrer a germinação. Como relatado por RIBEIRO et al.(2007) e MUNNS & TESTER (2008) as espécies glicófitas toleram substratos com condutividade elétrica (CE) igual ou superior a 4,0 dS m<sup>-1</sup>. Esta faixa de condutividade elétrica é equivalente à adição ao substrato de cerca de 40 mM NaCl ou 0,27% sal. São exemplos as espécies classificadas como moderadamente sensíveis, tolerando CE entre 4 a 6 mS cm<sup>-1</sup> (40 a 60 mM), como por exemplo alfafa (Medicago sativa L.), trevo (Trifolium repens L.), milho (Zea m. L.), batata (Solanum tuberosum L.), arroz (Oriza sativa L.) e alface 24 (Lactuca sativa L.); e sensíveis, as quais toleram CE de zero a 4 mS cm<sup>-1</sup> (0 a 40 mM), como o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), macieira (Malus sp.), limoeiro (Citrus limon L.), morangueiro (Fragaria sp.L.), laranjeira (Citrus aurantium L.) e cenoura (Daucus carota L.) (GIANELLO et al., 1995). Portanto, nas nossas condições experimentais testadas, as plantas de Girassol podem ser consideradas sensíveis a salinidade. As cultivares mais tolerantes encontradas no presente trabalho, baseado nos paramentos morfológicos, percentual de germinação, comprimento da raiz principal, massa seca da raiz e parte aérea, foram: Hélio 251, 250 e 253.

#### 5.4 Interação entre fontes de nitrogênio x salinidade em girassol

A interação entre fontes de nitrogênio x salinidade foi estudada na cultivar de Girassol Hélio 360, cultivar selecionada anteriormente como sensível a salinidade. Deve ser levado em consideração que a germinação foi avaliada aos quatro e dez dias após o plantio e colocação da fonte nitrogenada foi no momento do plantio.

Os resultados encontrados do efeito da salinidade no experimento 11, estão de acordo com os resultados dos experimentos 7 e 8. Independente da fonte nitrogenada ocorreu diminuição da germinação e dos valores dos outros parâmetros testados como massa de raiz e parte aérea secas com a adição de sal. Não se confirmou a hipótese de que a fonte poderia alterar o efeito da salinidade. Deve ser levado em consideração na avaliação deste parâmetro que a germinação foi avaliada aos 4 e 10 dias após o plantio. Não é muito discutido na literatura a importância da fonte nitrogenada no metabolismo de plântulas. A semente tem no início de sua germinação apenas reservas nitrogênio na forma orgânica, portanto com carga zero (RAVEN et al., 1991). Entretanto, logo no início da absorção e assimilação da primeira fonte nitrogenada, e com a planta realizando a fotossíntese, o metabolismo de nitrogênio inicia-se e os mecanismos de defesa da célula age, com eliminação de excedentes de carga, liberando OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> na rizosfera das primeiras radículas (JACOB-NETO, informação pessoal). Portanto, é provável que os mecanismos bioquímicos envolvendo a ação do nitrogênio na planta dependa da morfologia da plântula. Era esperado as plantas crescendo em solos pobres em nitrogênio apresentaram maiores valores de peso de massa seca de raízes do que se crescidas com maior disponibilidade de N.

Quando se avaliou a condutividade elétrica da rizosfera, foi verificado que os menores valores foram encontrado nos tratamentos onde não foram aplicados nitrogênio,

indicando que este elemento aumenta a atividade elétrica na interface raiz-solo. Entretanto, não ocorreram diferenças de condutividade da elétrica entre as fontes de nitrogênio, indicando que a fonte não é responsável por esta condutividade, mas sim o elemento químico nitrogênio, ou seu par K<sup>+</sup> ou SO<sub>4</sub><sup>=</sup>. Diferente do que poderia se esperar, os valores da condutividade elétrica do solo coletado distante das raízes, foram muito superiores nos tratamentos com nitrogênio. Mecanismo eletroquímico especial deve ter ocorrido nesta interface raiz-solo que diminuiu a condutividade, talvez, a liberação de quelantes orgânicos, mortes de células das raízes, que impede a livre circulação de elétrons. Entretanto, com este tipo de delineamento experimental isto não foi possível de ser constatado.

Portanto, o efeito da fonte nitrogenada aplicada diretamente no solo, não alterou o efeito da acidez (experimento 9) e nem o efeito da salinidade do solo na cultivar de Girassol Hélio 360. Devido aos complexos mecanismos envolvendo o comportamento de nitrogênio no solo, isto pode ter alterado os resultados reais que ocorrem no nível da interface raiz e solo. Estudos em condições controladas, com controle do poder tampão do meio devem ser executados para verificar os efeitos destas fontes na rizosfera. Experimentos em condições que o isolamento dos efeitos destes mecanismos de solo, poderiam ser evitados utilizando a aplicação foliar por exemplo.

### 5.5 Interação entre fontes de Nitrogênio x Trichoderma x Salinidade

Tem sido relatado na literatura que isolados de Trichoderma tem a habilidade de solubilizar fosfato e outros minerais, colocando-os disponíveis para as plantas, e também pela produção de análogos de auxinas (HARMAN, 2000). Outros autores relacionam este fungo ao fitohormônio AIA (CARVALHO FILHO, 2010), elongação celular (TAIZ & ZEIGER, 2006), e ao aumento da disponibilidade de ferro para as plantas (BENÍTEZ et al., 1998). Outros trabalhos tem mostrado que Trichoderma produz extracelularmente glucanases, quitinases, lípases e proteases que são capazes de degradar a parede celular do microrganismo antagonizado (CHET et al., 1998; DE MARCO et al., 2000). O isolado T-22 de T. harzianum foi efetivo na indução de formação de raízes em tomateiro, tanto quanto um hormônio comercial, e ocorreu aumento nas raízes de soja e milho tratadas com o referido isolado sendo obtida maior produtividades de pimentão quando comparado com testemunhas não tratadas (HARMAN, 2000). Como ocorreram problemas em estabelecer metodologias que diminuíssem a toxidez provocada por alumínio e pela salinidade, considerou-se que a adição deste fungo ao sistema solo-planta, poderia amenizar estes efeitos. Na literatura não foram encontrado trabalhos que indicassem claramente qual é a faixa ideal de pH para o crescimento do fungo e nem a sua interação com fontes nitrogenadas. Por esta razão os experimentos 12,13, e 14 foram instalados com plantas de maracujá. O experimento 12 visou apenas estabelecer a faixa ideal de crescimento do fungo. Para isso foram utilizados amostras provenientes do produto comercial Trichobio que contem *Trichoderma*, aplicados em placa de Petri com meio de cultura em vários valores de pH. Neste primeiro ensaio ficou claro que em valores de pH abaixo de 5 não ocorreu mais crescimento do fungo, portanto, sugerindo que o mesmo preferiria ambientes de crescimento mais básicos.

No experimento 13 foi testado a inoculação direta do fungo na solução nutritiva adicionado no momento que as plântulas de maracujá foram transplantadas. Neste experimento foi verificado que as plântulas crescidas com a fonte de nitrogênio amônio, produziram valores de pH abaixo de 5, e mesmo assim foi verificado a presença do na

raiz. Algum outro fator modificou o comportamento da interação fungo x rizosfera, possibilitando sua associação. Deve ser levado em consideração que este foi um teste rápido, de apenas 5 dias de crescimento na solução nutritiva. Outro fator a considerar, e que o inóculo do fungo não deve ter ficado aderido, devido tensão superficial da raiz, porque a mesma antes de ser colocada na placa de Petri foi lavada e esterilizada, portanto, sugerindo uma associação com as plântulas de maracujá, mesmo neste valor de pH baixo. Com as plantas crescendo com a fonte nitrato, o percentual de infecção foi menor que 60%, em valores de pH em torno de 7,5.

O experimento 14 foi instalado para dirimir estas dúvidas da interação fonte e associação com fontes nitrogenadas, com as plantas sendo avaliadas aos 30 dias após o transplante. Ocorreu efeito da fonte de nitrogênio na percentagem de infecção com a dose intermediária de Trichobio. Após 30 dias, observa-se que o nitrato aumentou os valores de massa seca de raiz e parte aérea. Amônio diminuiu o pH como era esperado. Este experimento foi realizado em areia, supostamente com baixo poder tampão, tendo esta fonte influenciado o crescimento das plantas de Maracujá. Esse pode inclusive ser um indicativo que se for realizado o plantio desta fruteira em ambientes com baixo poder tampão, não se deveria recomendar a adubação com fontes amoniacais. Observando a coloração das raízes das plantas de maracujá crescidas com nitrato na dosagem de 30 ml/kg de solo, foi possível verificar que elas tinham cores brancas, diferente das planta controle e plantas com amônia. A fonte amoniacal claramente diminuiu os parâmetros testados na planta de maracujá. Então pode-se concluir que estes resultados são diferentes do experimento 13 onde foi mostrado que a fonte amoniacal influenciou a porcentagem de infecção por Trichoderma, embora naquele caso, as plantas foram crescidas em solução nutritiva. Não ocorrendo interação entre fonte de nitrogênio e porcentagem de infecção por *Trichoderma*, diminui as possibilidades de um parâmetro beneficiar o outro. Não foi encontrado na literatura trabalhos relacionando estes parâmetros aqui testados. Neste experimento foi também avaliada as concentrações de Ca, Mg, P e K na raiz e parte aérea. A fonte de nitrogênio só influenciou a concentração de K nas raízes. Na raiz a concentração de Trichoderma influenciou de forma significativa a absorção de Ca, sendo obtida a maior concentração na dosagem 30 ml/kg de solo. Ocorreu interação entre a fonte de nitrogênio e concentração de Trichoderma para a concentração de K. Na parte aérea, a fonte nitrogenada só não influenciou a absorção de Mg, não tendo o Trichoderma exercido qualquer influência na contração de Ca, Mg, P e K. Apesar da literatura ter relatado o aumento da eficiência da absorção de elementos como P (HARMAN, 2000), não foram encontrado trabalhos relacionando estas interações aqui testadas com concentração de nutrientes nos tecidos.

As concentrações dos cátions Ca, Mg e K e do anion P em função das fontes nitrogenadas estão de acordo com a literatura (KIRKBY & MANGEL 1967; ALLEN et al. 1988; JACOB-NETO, 1993). As plantas utilizam o NO<sub>3</sub>- como uma fonte de nitrogenio deve aumentar a captação de cations (ver equação item 2.1 da revisão de literatura), que também é conhecido que as plantas com N-NH<sub>4</sub>+e N-N<sub>2</sub> aumentar o teor de anion (ver equação no item 2.1 da revisão de literatura). No presente trabalho o cátion K parece ser nestas condições de crescimento, das plantas de maracujá, o principal elemento regulador do balanço iônico das plantas.

Um experimento à parte, seguindo a metodologia do experimento 14, mas com concentrações de sais (0, 12,5; 25,0 e 50,0 mM de NaCl), foi também realizado com plantas de Girassol cultivar Hélio 360, crescidos em um solo Argissolo (dados não tabelados). Foi observado neste experimento que não ocorreu efeito estaticamente significativo da fonte nitrogenada, do *Trichoderma*, nem da interação entre estes fatores, para massa seca de raiz e parte aérea e germinação. Embora tenho ocorrido efeito

significativo estatisticamente da salinidade e da interação entre salinidade e *Trichoderma* para massa de raiz seca. Fato interessante neste trabalho foi observar que o uso de *Trichoderma* aumentou a massa seca radicular sem a presença de sal, mas com aumento da concentração de sais, este efeito desapareceu demonstrando alta sensibilidade deste fungo a salinidade.

Devido a sua ação na capacidade de absorção de elementos minerais, bem como na sua capacidade de produzir matéria orgânica na rizosfera das plantas foi levantado a hipótese que a presença do fungo *Trichoderma* na superfície da raiz diminuiria o fluxo de sais tóxicos com Na e Cl, o que aparentemente não ocorreu. Não foi encontrado na literatura informações diretas que suportam a hipótese levantada neste presente trabalho. Embora nos últimos anos este fungo tem sido utilizado com amenizador de doenças e promoção de crescimento vegetal (SHORESH et al., 2008; GORGEN et al., 2009).

# 5.6 A liberação OH<sup>-</sup> e H<sup>+</sup> na rizosfera, utilizando as fontes nitrogenadas nitrato e amônio, aplicado via foliar, pode alterar esta toxicidade de alumínio e de salinidade nas plântulas

O experimento 15 foi realizado para estudar se a aplicação foliar de fontes nitrogenadas diretamente nas folhas de café alteraria o pH da rizosfera. A hipótese formulada foi a de que se isto ocorresse, a aplicação constante de fontes nitrogenadas poderia manter o pH da rizosfera, ácido ou alcalino, de acordo com a proposta de manejo desejada, como exemplo através da irrigação por aspersão. Com isso as mudanças químicas e biológicas do nitrogênio no solo seriam evitadas, tendo a certeza do pH pela aplicação da fonte nitrogenada. Foi encontrado efeito da fonte nitrogenada e também a interação entre fonte e concentração de nitrogênio. Vale ressaltar que o pH inicial da solução foi ajudado para o valor 6,0.

Os dados de pH da solução indicaram que ocorreu o mesmo comportamento da aplicação de fontes de nitrogênio no solo. O pH aumentou com nitrato e decresceu com amônia. Cerca de 5 horas após a aplicação de nitrato nas folhas ocorreram mudanças nos valores de pH da solução, isto não ocorreu para a fonte amônio, que começou a alterar o pH da solução só após 10 horas. Pode ser observado também que após 100 horas, as plantas de café que não receberam nitrogênio, começaram da diminuir o pH da solução como uma provável extrusão de íons H<sup>+</sup>, Raven (1988) e Raven *et al.*(1990) sugerem que plantas com deficiência de nitrogênio alteram seu comportamento bioquímico, liberando H<sup>+</sup> para o meio. Como pode ser observado pela analise visual das folhas, a fonte amônio provocou toxidez nas folhas nas duas concentrações testadas 5 e 10%. A fonte nitrato não provocou este efeito, sugerindo que esta fonte pode ser utilizada como alternativa de manejo no cultivar de café Catuai. A comprovação da liberação de OH<sup>-</sup> e H<sup>+</sup> ocorreu pelo método de Horst e Marchener (1967), pela coloração do meio agariado.

No experimento 16 a tentativa foi colocar uma folha cotiledonar diretamente dentro da solução para verificar efeito da liberação de OH e H+. Pode ser observado que as mudanças do pH na solução não foram significativas como ocorreu na pulverização direta. Ocorreu efeito de toxidez, mesmo com aplicação de 10%. Portanto, esta não seria uma alternativa recomenda nem para estudos de fisiologia em condições controlada em plantas de café cultivar Catuai.

No experimento 17 foi testado a metodologia de aplicação foliar visando estudar as interações entre as fontes de nitrogênio e a toxidez de alumínio em plântulas de café Catuai. Verificou-se que não ocorreu efeito benéfico da aplicação de foliar das fontes nitrogenadas em evitar a toxidez de alumínio nas plântulas de café, embora o

comprimento radicular na fonte nitrato tenha sido maior. Vale ressaltar que este teste de aplicação foliar foi realizado com plântulas e com a duração de apenas 168 h de contato com a solução de alumino, o que pode ter prejudicado os resultados.

No experimento 18 foi utilizada a técnica de aplicação foliar, mas usando só nitrato, visto que a amônio causou toxidez nas folhas. Neste experimento foi estudado a interação dose de nitrato x dose aplicado de alumínio no solo x cultivar. Os resultados obtidos confirmoram que a cultivar de girassol Hélio 250 é a mais tolerante entre as testadas neste trabalho. Foi também estabelecido que a fonte nitrogenada não alterou a toxidez do alumínio, embora o comprimento radicular relativo das plantas crescidas com nitrato aplicado na dosagem de 10% tenham sido superior aos demais, só perdendo para a testemunha sem nitrogênio. Na literatura entretanto, é bem documentado que plantas sem nitrogênio apresentam um maior crescimento radicular, talvez, este efeito tenha mascarado o efeito real positivo da aplicação foliar de nitrato. Mais experimentos são necessários para entender melhor esta relação fonte de nitrogênio x alumínio no substrato de crescimento. A sugestão seria a aplicação foliar constante de fonte nitrogenada ou diretamente no substrato de crescimento, com plantas crescendo em um substrato tamponado. Esta poderia ser uma alternativa para não só controlar toxidez de alumínio, mas também ajustar o pH da rizosfera para qualquer pH desejado. É importante, ressaltar também que o pH do substrato de crescimento das plantas de girassol não foi alterado pelas fontes de nitrogênio, talvez por elas terem desde o início do experimento sentido os baixos valores de pH do solo, em torno de 5,6 no tratamento sem adição de alumínio e de 4.3 e 3.8 respectivamente com as adições de 1500 e 4500 kg ha<sup>-1</sup> de alumínio aplicados como sulfato de alumínio. O experimento onde a fonte nitrogenada foi aplicada no solo para diminuir a salinidade não reproduziu os efeitos desejados. Pouco é conhecido sobre a fisiologia das plantas arbóreas (experimento 19), principalmente as de importância econômica como é o caso do sombreiro, planta importante na arborização brasileira. As dificuldades encontradas aqui foram estabelecer um conjunto de plantas que possuísse uma mesma morfologia e condições de crescimento. As mudas demoraram cerca de 12 meses para se ter uma quantidade de folhas onde fosse possível aplicar as fontes nitrogenadas com alumínio. Apesar de não se ter encontrado resposta significativa, os dados demonstram claramente que ocorreu diferenças entre os tratamento cujas respostas foram prejudicados devido provavelmente ao baixo número de repetições, por esta razão com alto coeficiente de variação.

No experimento com amendoeira (experimento 20) pode ser observado que quando a folha cotiledonar foi imersa na solução com diferentes fontes de nitrogênio e em várias concentrações de alumínio, apesar da análise de variância geral ter mostrado efeito da significativo estatisticamente da fonte nitrogenada (P≥F 0,04814) e do efeito do alumínio (P≥F 0,00009), quando se realizou a análise isolada não foi possível encontrar as diferenças. Este é um resultado difícil de ser explicado, e mais trabalhos precisam ser executados para entender melhor a fisiologias destas plantas arbóreas de importância no meio urbano brasileiro.

#### 6 CONCLUSÕES

Foram selecionadas como medianamente tolerantes ao alumínio a cultivar de Girassol Hélio 360.

Foram selecionadas como tolerantes a salinidade as cultivares Hélio 251>250>253.

A liberação do OH-/H+ com aplicação das fontes nitrogenadas diretamente no meio de crescimento, não conseguiram minimizar os efeitos tóxicos do alumínio e da salinidade para as espécies de girassol, café, amendoeira, sombreiro, abacaxi e maracujá.

O fungo Trichoderma cresceu em placas de petri somente em valores de pH acima de 5,0. A liberação de OH<sup>-</sup>/H<sup>+</sup> não influenciou a associação do fungo com as raízes de plantas de Girassol e Maracujá.

As fontes nitrogenadas aplicadas via foliar aumentaram o pH da solução quando foi aplicado 10% de nitrato e reduziram o pH quando foi aplicado 5% e 10% de sulfato de amônia em plantas de Café e com 10% de nitrato em Girassol.

A aplicação foliar de fontes nitrogenadas não alteraram a toxidez de alumínio e nem do efeito salino em plantas de Café e Girassol.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOGADALLAH, G. M.; SERAG, M. M.; QUICK, P. W. Fine and coarse regulation of reactive oxygen species in the salt tolerant mutants of barnyard grass and their wild-type parents under salt stress. Physiologia Plantarum, v. 138, p. 60-73, 2010.
- AGARWAL, S.; PANDEY, V. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in Cassia angustifoli. Biologia Plantarum, v. 48, p. 555-560, 2004.
- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. 4 ed. Academia Press: san Diego, 635 p. 1997
- AKBARIMOGHADDAM, H.; GALAVI, M.; GHANBARI, A.; PANJEHKEH, N. Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. Trakia Journal of Sciences, v. 9, p. 43-50, 2011.
- AKINCI, I. E.; AKINCI, S. YILMAZ, K.; DIKICI, H. Response of eggplant varieties (Solanum melongena) to salinity in germination and seedling stages. New Zealan, Journal of Crop and Horticultural Science, v. 32, p. 193-200, 2004.
- ALAMGIR, A.N.M. AND AKHTER, S.; Effects of aluminium (Al<sup>3+</sup>) on seed germination and seedling growth of wheat (*triticum aestivum* 1.). Bangladesh Journal Botany, vol.38(1) p.1-6, 2009
- ALLEN, S. & SMITH, J.A.C. Ammonium Nutrition in *Ricinus communis*: Its Effect on Plant Growth and the Chemical Composition of the Whole Plant, Xylem and Phloem Saps. Journal of Experimental Botany, v.37, n.11, p.1599-1610, 1986.
- ALLEN, S.; RAVEN, J.A.; SPRENT, J.L. The role of long-distance transport in intracellular pH regulation in *Phaseouls vulgaris* grown with ammonium or nitrate as nitrogen source, or nodulated. Journal of Experimental Botany, v.39, p.513-528, 1988.
- ALSCHER, R. G.; DONAHUE, J. L.; CRAMER, C. L. Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. Plant Physiology, v. 100, p. 224-233, 2002.
- ALTOMARE C, NORVELL WA, BJÖRKMAN T, HARMAN GE. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus Trichoderma harzianum Rifai strain 1295-22. Appl Environ Microbiol 65: 2926-2933. 1999.
- AMTMANN, A.; SANDERS, D. Mechanism of Na+ uptake by plant cells. Advances in Botanical Research, v. 29, p. 76-112, 1999.
- ANGELINI, J.; CASTRO, S.; FABRA, A. Alterations in root colonization and *nodC* gene induction in the peanut–rhizobia interaction under acidic conditions. Plant Physiology and Biochemistry, v.41 p.289-294, 2003.
- ANDRADE, L. F. D.; FRIGERI, R. B. C.. Aspectos germinativos e crescimento inicial de plântulas das espécies arbóreas tropicais Peltophorum dubium (SPRENG.) TAUB. E

- Clitoria fairchildiana HOWARD, in: XVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2008.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review Plant Biotechnology, v. 55, p. 373-399, 2004.
- APSE, M. P.; AHARON, G. S.; SNEDDEN, W. A.; BLUMWALD, E. Salt tolerance conferred by overxpression of a vacuolar Na+/H+ antiport in Arabidopsis. Science, v. 285, p. 1656-1658, 1999.
- ARNON, D. I.; Copper enzymes in isolated chlroplast. Polyphenol oxidases in Beta vulgaris. Plant Phisiology, v. 24, p. 1-14, 1949.
- ASAI, N.; MATSUYAMA, T.; TAMAOKI, M.; NAKAJIMA, N.; KUBO, A.; AONO, M.; KATO, T.; TABATA, S.; SHIRANO, Y.; SHIBATA, D.; HAYASHI, H.; MULLINEAUS, P.M.; SAJI, H. Compensation for lack of a cytosolic ascorbate peroxidase in an Arabidopsis mutant by activation of multiple antioxidative systems. Plant Science, v. 166, p. 1547-1554, 2004.
- ASHRAF, M.; AHMAD, S. Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fibre characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (Gossypium hirsutum L.) Field Crops Research, v. 66, p. 115-127, 2000.
- ASHRAF, M., ALI, Q. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (Brassica napus L.). Environment Experimental Botany, v. 63, p. 266-273, 2008.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, London, v. 166, p.3-16, 2004.
- AZEVEDO-NETO, A. D.; PITSCO, J. T.; ENEAS-FILHO, J.; DE ABREU, C. E. B.; GOMES-FILHO, E. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environmental Experimental Botany, v. 56, p. 87-94, 2006.
- AZEVEDO, R. A. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. Physiologia Plantarum, v. 104, p.280-292, 1998.
- Ahmed, Ben Ch., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhriss, M., Saline water irrigation effects on fruit development, quality and phenolic composition of virgin olive oils, Cv Chemlali. J. Agric. Food Chem. 57 (7), 2803e2811. 2009
- Barcelo J, Poschenrieder C. 2002. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. Environmental and Experimental Botany 48, 75–92.
- BARKLA, B. J.; ZINGARELLI, L.; BLUMWALD, E.; SMITH, J. A. C. Tonoplast Na+/H+ antiport activity and its energization by the vacuolar H+-ATPase in the

halophytic plant Mesembryanthemum crystallinum L. Plant Physiology, v. 109, p. 549-556, 1995.

BARROSO, C. M.; FRANKE, L. B.; BARROSO, I. B. Substrato e luz na germinação das sementes de rainha-do-abismo. Horticultura Brasileira, v. 28, p.236-240, 2010.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. Plant Science, v.24: p.23-58, 2005.

BAYUELO-JIMENEZ, J. S.; CRAIG, R.; LYNCH, J.P. Salinity tolerance of Phaseolus species during germination and early seedling growth. Crop Science, 42, p. 2184-2192, 2002.

Benjamins R, Malenica N, Luschnig C. 2005. Regulating the regulator: the control of auxin transport. BioEssays 27, 1246–1255.

BENITEZ, T.; LIMÓN, C.; DELGADO-JARANA, J.; REY, M. Glucanolytic and other enzymes and their genes. *In:* Trichoderma and Gliocladium – enzymes, 66 biological control and commercial applications (HARMAN, G.E.; KUBICEK, C.P., eds). London, Taylor & Francis, vol 2, pp. 101-27, 1998.

BERTHOMIEU, P.; CONÉJÉRO, G.; NUBLAT, A.; BRACKENBURY, W. J.; LAMBERT, C.; SAVIO C.; UOZUMI, N.; OIKI, S.; YAMADA, K.; CELLIER, F.; GOSTI, F.; SIMONNEAU, T.; ESSAH, P. A.; TESTER, M.; VÉRY, A. A.; SENTENAC, H.; CASSE, F. Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na+ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. The EMBO Journal, v. 22, p. 2004-2014, 2003.

BETHKE, P. C.; DREW, M. C. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of Capsicum annum during progressive exposure to NaCl salinity. Plant Physiology, v. 99, p. 219-226, 1992.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. *In* Manual de Fitopatologia, Princípios e conceitos(BERGAMIN FILHO, A; KIMATI, H; AMORIM, L., eds). 3ª ed. São Paulo, Agronômica Ceres, v. 1, p. 717-27, 1995.

BOARETTO, A.E.; BOARETTO, R.M.; MURAOKA, T.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; TIRITAN, C.S. & MOURÃO FILHO, F.A.A. Foliar micronutriente application effects on citrus fruit yield, soil and leaf Zn concentrations and <sup>65</sup>Zn mobilization within the plant. Acta Horticulturae, v.594, p.203-209, 2002.

BORTOLINI, E.; PAIAO, G. D. & D'ANDRÉA, M. S. C. Estudo da planta de girassol. IN: IN: GAZZOLA 2012. A cultura do girassol. Piracicaba, 2012. p. 13-21.

BOUWMEESTER, H.J.; ROUX, C.; LOPEZ-RAEZ, J.A. BÉCARD, G. Rhizosphere communication of plants, parasitic plants and AM fungi. TRENDS in Plant Science, v.12 n.5, 2007.

BRACCINI, M. C. L.; MARTINEZ, H. E. P.; PEREIRA, P. R. G.; SAMPAIO, N. F.; SILVA, E. A. M. Tolerânciade genótipos de cafeeiro em solução nutritiva: I. crescimento

- e desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v.22, n.3, p.435-442, 1998.
- CAMARGO, P.N. & SILVA, O. Manual de adubação foliar. São Paulo: Libreira e Editora Herba, 1975. 258p.
- CARNEIRO, P. T.; FERNANDES, P. D.; GHEYI, H. R.; SOARES, F. A. L. Germination and initial growth of precocious dwarf cashew genotypes under saline conditions. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola, Campina Grande, v.6, p.199-206, 2002.
- CARVALHO, A. O.; JACOB-NETO, J.; DO CARMO, M. G. F. Colonização de raízes de tomateiro por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em solução nutritiva com três fontes de nitrogênio. Fitopatol. bras. v.30. n.1 Brasília. 2005.
- CARVALHO, C. A. M. Condicionamento fisiológico em matriz sólida durante o armazenamento de sementes de café (Coffea arabica L.) com diferentes graus de umidade. 2009. 217p. Tese (doutorado) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- CASTRO, C. & FARIAS, J. R. B. Ecofisiologia do girassol. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTI, A. M. & CASTRO, C. Girassol no Brasil. Londrina, 2005. p.164-218.
- CASTIGLIONI, V. B. R. Cultivo do girassol. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1992. 4 p. (Circular Técnica, 13).
- CHANG, Y. C., Y.-C. CHANG, R. BAKER, O. KLEIFELD & I. CHET. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent Trichoderma harzianum. Plant Dis., 70:145-8. 1986.
- CONAB. Sexto levantamento: safra 2004/2005. Disponível em: <a href="http://www.conab.gov.br">http://www.conab.gov.br</a> Acesso em: 20 dez. de 2008.
- Corrales I, Poschenrieder C, Barcelo´ J. Boron-induced amelioration of aluminium toxicity in a monocot and a dicot species. Journal of Plant Physiology 165: 504–513. 2008.
- CUSTÓDIO, C. C.; BOMFIM, D. C.; SATURNINO, S. M.; MACHADO NETO, N. B. Estresse por alumino e pro acidez em cultivares de soja. Scientia Agrícola, v.59, n.1, p. 145-153, 2002.
- DARRAH, P.R. The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach. Plant and Soil. 155/156. 1-20. 1993.
- DE MARCO, J.L.; LIMA, L.H.C; SOUZA, M.V.; FELIX, C.R. A *Trichoderma harzianum* chitinase destroys the cell wall of the phytopathogen *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cocoa. World Journal Microbiol Biotechnol, v.16, p.383-86, 2000.
- DE PAULA, Andréia Alves. Caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante dos frutos da *Terminalia catappa* Linn./ Andréia Alves de Paula. –

Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. 2008. 91p.

DECHEN, A. R.; NACHTIGALL, G. R. Elementos requeridos à nutrição de plantas. In: NOVAIS, Roberto Ferreira et al. (Ed.) Fertilidade do solo. 1.ed. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. Cap.03, p.91-132.

DEGENHARDT J, LARSEN PB, HOWELL SH, KOCHIAN L.V. Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant *alr*-104 is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. Plant Physiol 117: 19–27. 1998.

DELHAIZE E, CRAIG S, BEATON CD, BENNET RJ, JAGADISH VC, RANDALL PJ Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). I. Uptake and distribution of aluminum in root apices. Plant Physiol 103: 685–693. 1993.

DONCHEVA S, AMENOS M, POSCHENRIEDER C, BARCELO J. Root cell patterning: a primary target for aluminium toxicity in maize. Journal of Experimental Botany 56, 1213–1220. 2005.

EICHERT, T.; FERNÁNDEZ, V., 2012. Uptake and Release of Elements by Leaves and Other Aerial Plant Parts. In Marschner, H., Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, Austrália, Ed. Elsevier Chapter 4, p 71-78.

ELAD, Y. Reasons for the delay in development of biological control of foliar pathogens. Phytoparasitica, v. 18, p. 99-105, 1990.

ERGLE, D. R. AND F. M. EATON. 1949. Organic acids of the cotton plant. Plant Physiol. 24: 373-88.

ESPOSITO, E.; SILVA, M. Systmatics and environmental application of the genus *Trichoderma*. Critic Rev Microbiol, v. 24, p. 89-98, 1998.

FAQUIN, V. 05. 1 Nutrição Mineral de Plantas. Lavras: UFLA – FAEPE, 2083p.

FERREIRA-SILVA, S. L.; VOIGT, E. L.; VIÉGAS, R. A.; PAIVA, J. R.; SILVEIRA, J. A. G. Influence of rootstocks on the resistance of cashew plantlets to salt stress. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 44, p.361-367, 2009.

FLOWERS, T. J.; TROKE, P. F.; YEO, A. R. The mechanism of salt tolerance in halophytes. Annual Review of Plant Physiology, v. 28, p. 89-121, 1977.

FLOWERS, T. J; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. New Phytologist, Brighton, v. 179, p. 945-963, 2008.

FYHRQUIST, P.; MWASUMBI, L.; HAEGGSRTOM, C. A.; VUORELA, HILTUNEN, R.; VUORELA, P.; 2002. Ethnobotanical and antimicrobial investigation on some species of Terminalia and Combretum (Combretaceae) growing in Tanzania. Journal of Ethnopharmacology 79, 169-177.

- FOY, C. D.; CHANEY, R.L. & WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. Annual Review Plant Physiology, vol.29 p.511-56, 1978.
- GAZZOLA 2012. A cultura do girassol. Piracicaba, 2012.
- GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; TEDESCO, M. J. Princípios de fertilidade do solo. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 276 p.
- GÓMEZ, I.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A. Genetic diversity and vegetative compatibility among *Trichoderma harzianum* isolates. Mol Gen Genet, v. 256, p.127-35, 1997.
- GUERREIRO-FILHO, O.; MENDES, A.N.G.; CARVALHO, G.R.; SILVAROLLA, M.B.; BOTELHO, C.E. Origem e classificação botânica do cafeeiro. In: Carvalho, C.H.S. (Org.). Cultivares de Café. Origem, características e recomendações. 1 ed. Brasília, DF: Embrapa Café, 2008, v. 1, p. 27-34.
- HANADA, E. H.; PIROVANI, C. P.; POMELLA, A. W. V.; PEREIRA, J. O. Produção de glucanase e celulase em meios de cultura por Trichoderma viride, potencial agente de biocontrole da podridão-parda do cacau. Brasília, Fitopatologia Brasileira, 31, 2006
- HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Dis. 84:377-393. 2000.
- HARMAM, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology, v.2, p.43-56, 2004.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of Trichoderma spp. Phytopathology, 96:190-4. 2006.
- HARMAN, G. E. & M. SHORESH. The mechanisms and applications of opportunistic plantsymbionts. In M. Vurro & J. Gressel (eds.), Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management, pp. 131-53. Springer, Amsterdam, The Netherlands. 2007.
- HAYNES, R.J. Active ion uptake and maintenance of cation-anion balance: A critical examination of their role in regulating rhizosphere pH. Plant and Soil, v.120, p.247-264, 1990.
- HINSINGER, P. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. Plant and Soil, v.237, p.173–195, 2001.
- HINSINGER, P. & GILKES, R.J. Root-induced dissolution of phosphate rock in the rhizosphere of lupins grown in alcaline soil. Australian Journal of Soil Research. 33, 477-489, 1995.
- HINSINGER, P.; PLASSARD, C.; TANG, C.; JAILLARD, B. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. Plant and Soil, v.248, p.43–59, 2003.

Horst WJ. The role of the apoplast in aluminium toxicity and resistance of higher plants: a review. Z Pflanzenerna hr Bodenk 158: 419–428. 1995.

Horst WJ, Wang YX, Eticha D.. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. Annals of Botany 106, 185–197. 2010.

Howell, C. R.. Relevance of mycoparasitism in the biological control of *Rhizoctonia* solani by *Gliocladium virens*. Phytopathology 77:992-994. 1987.

INSTITUTO PLANTARUM- Amendoeira. Página disponível na internet em: http://www.plantarum.com.br/amendoeira.html. Acesso em novembro de 2013.

JACOB-NETO, J. The interactions of H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> exchanges between roots and rhizosphere with plant nutrition and aluminium effects. University of Dundee. Scotland. Tese de PhD. 2003.

JARVIS, S.C. & ROBSON, A.D. The effects of nitrogen nutrition of plants on the development of acidity in Western Australian soils. I. Effects with subterranean clover grown under leaching conditions. Aust. J. Agric. Res., v.34, p.341–353, 1983.

KADER, M. A, LINDBERG, S. Uptake of sodium in protoplasts of salt-sensitive and salt-tolerant cultivars of rice, Oryza sativa L. determined by the fluorescent dye SBFI. Journal of Experimental Botany, v. 422, p. 3149-3158, 2005.

Kennedy, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. Agriculture, Ecosystems and Environment, 74(1):65-76, 1999.

Khan MSH, Tawaraya K, Sekimoto H, et al. 2009. Relative abundance of delta5-sterols in plasma membrane lipids of root-tip cells correlates with aluminum tolerance of rice. Physiologia Plantarum 135: 73–83.

KIRKBY, E.A. & MENGEL, K. Ionic balance in different tissues of the tomato plant in relation to nitrate, urea, or ammonium nutrition. Plant Physiology, v.42, p.6-14, 1967.

KIRKBY, E.A. & KNIGHT, A.H. Influence of the level of nitrate nutrition on ion uptake and assimilation, organic acid accumulation, and cation-anion balance in whole tomato plants. Plant Physiology, v.60, p.349-353, 1977.

KLEIFELD, O.; CHET, I. Trichoderma: plant interaction and its effects on increased gr owth response. Plant Soil. v. 144, n. 2, p. 267-272, 1992.

Kochian, L.V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. Annual Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 46: 237–260. 1995

KOLLMEIER M, FELLE H.H., HORST, W. J. Genotypical differences in aluminum resistance of maize are expressed in the distal part of the transitionzone. Is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminum. Plant Physiology 122: 945–956. 2000.

- KRONZUCKER, H. J; SZCZERBA, M. W.; MOAZAMI-GOUDARZI, M.; BRITTO, D. V. The cytosolic Na+:K+ ratio does not explain salinity-induced growth impairment in 70 barley: a dual-tracer study using K+ and Na+. Plant, Cell and Environment, v. 29, p. 2228-2237, 2006.
- LAZZAROTTO, J.J.; ROESSING, A.C. & MELLO, H.C. O agronegócio do girassol no mundo e no Brasil. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTI, A.M. & CASTRO, C. Girassol no Brasil. Londrina, 2005. p.15-42.
- LEMOS, J. J. Influência de diferentes fontes de nitrogênio no processo de infecção de plantas de feijoeiro por *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*. Dissertação de Mestrado. 2010. p.99. Universidade Federal Rual do Rio de Janeiro, Seropedica. 2010 LEECE, D.R. Composition and ultraestructure of leaf cuticles from fruit trees, relative to differential foliar absorption. Aust. J. Plant Physiol., v.3, p.833-847, 1976.
- LEHNINGER, A.L. Princípios de bioquímica. São Paulo: Servier Editora de Livros Médicos, 1993. 725p.
- LIMA, J. E. O.Novas técnicas de produção de mudas cítricas. Revista Laranja, Cordeirópolis, v. 2, n. 7, p. 463-468, 1986.
- LIMA, M. L. & COPELAND, L. The effect of aluminum on the germination of wheat seeds. Journal of Plant Nutrition, vol.13(12), p. 1489 1497, 1990
- LIMA NETO, E. M. & SOUZA, R. M. Comportamento e características das espécies arbóreas nas áreas verdes públicas de Aracaju, Sergipe. SCIENTIA PLENA vol. 7, num. 1, 2011.
- LITLLE, R. Plant soil interactions at the low pH problem solving the genetic approach. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v. 19, n. 7/12, p. 1239-1257, 1988.
- LOPOES BUCIO, J. L. NIETO JACOBO, M. F. & HERRERA ESTRELLA, L. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. Plant Sci., 160: 1-13, 2000.
- LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, p 352, 1998.
- LORITO, M.; HARMAN, G.E; HAYES, C.K; BRODWAY, R.M; TROSMO, A.; WOO, S.L; PIETRO, A. Chitinolytic enzymes produced by Trichoderma harzianum, antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. **Phytopathology**, v. 83, p. 302-07, 1994.
- LUMSDEN, R.D; LOCKE, J.C. Biological control of damping-off caused by *Phytium ultimun* and *Rhizoctonia solani* in soiless mix. Phytopathology, v. 79, p. 361-66, 1989.
- LUNA, J. V. U. Instruções para a cultura do maracujá. Salvador: EBAPA, 1984. 25 p. (Circular técnica, 7).

LYNCH, J. Root architecture and plant productivity. Plant Physiol., 109: 7 – 13, 1995

Ma, J. F, Hiradate S, Nomoto K, Iwashita T, Matsumoto H. 1997. Internal detoxification mechanism of Al in hydrangea (identification of Al form in the leaves). Plant Physiology 113: 1033–1039.

MÄSSER, P.; GIERTH, M.; SCHROEDER, J.I. Molecular mechanisms of potassium and sodium uptake in plants. Plant and Soil, v. 247, p. 43-54, 2002.

MACEDO, R. A. T. Efeitos da Extrusão de H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> em Plantas de Feijão Devido ao Metabolismo de Diferentes Fontes de Nitrogênio Sobre o Início da Formação de Nódulos Radiculares. Tese de Doutorado. 2010. 160p. Universidade Federal Rual do Rio de Janeiro, Seropedica. 2010.

MACEDO, C. M. P. & LOPES, J. C. Qualidade fisiológica de sementes de café arábica na presença de alumínio. Revista Brasileira de Sementes, vol. 30, n.1, p. 66-73. 2008

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2006. 638p.

Malavolta, E. Manual de química agrícola: adubos e adubação, 1981. 596p.

MARCELIN, H. Lavigne dans les sols acides du Roussilon. Bolletin Technique des Pyrenées-Orientales, Montpellier, n.82, p.53-55, 1977.

MARCOS-FILHO, J. 2005. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. FEALQ, Piracicaba.

MANICA, I. Fruticultura tropical: Maracujá. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres. 1981. 160p.

MANICA, I. Fruticultura tropical: 3. Mamão. Ed. Agronômica Ceres Ltda. São Paulo-SP, Brasil. 1982. 255p

MANTELIN, S & TOURAINE, B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. Journal of Experimental Botany, v.55, n.394, p.27-34, 2004.

MARIN, A.; SANTOS, D. M. M.; BANZATTO, D. A.; FERRAUDO, A. S. Germinação de sementes de guandu sob efeito da disponibilidade hídrica e doses subletais de alumínio. Bragantia, v. 63, n.1, p. 13-24, 2004.

MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, CH. & BARCELÓ, J Aluminium tolerance assessment in bush bean cultivars by root growth analysis and hematoxylin staining. Separata de Suelo Planta, 1991, p. 25-32.

MASSOT N, NICANDER B, BARCELO J, POSCHENRIEDER CH, TILLBERG E. A rapid increase in cytokinin levels and enhanced ethylene evolution precede Al3+-induced inhibition of root growth in bean seedlings (Phaseolus vulgaris L.). Plant Growth Regulation 37, 105–112. 2002

- MELO, B. de. Estudos sobre produção de mudas de caffeiro (Caffea arabica L.) em tubetes. 1999. 119f. Tese (Doutourado) Universidade Federal de Lavras, Mossoró, 1999.
- MELO, I.S., Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO,I.S. de .; AZEVEDO, J. L. Controle Biológico. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.
- MELETTI, L.M. M.; MAIA, M. L. Maracujá: Produção e comercialização. Campinas: Instituto Agronômico, 1999. 62 p. (Boletim técnico, 1981).
- MELETTI, L. M. M.; FURLANI, P. R.; ÁLVARES, V.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. O Agronômico, Campinas, v. 54, n. 1, p. 30-32, 2002.
- MENDONÇA, R.M.N.; COELHO, A.F. da S.; MARTINEZ, H.E.P.; FONTES, P.C.R.,; PEREIRA, P.R.G. Respostas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Deg.*) cultivadas em solução nutritiva, a diferentes níveis de alumínio. Revista Ceres, Viçosa, v.46, n.266, p.357-370, 1999.
- MENCH. M; MOREL, J.L.; GUCKERT, A.; GUILLET, B. Metal binding with root exudates of low molecular weight. Journal of Soil Science, v. 39, p. 521-527, 1988.
- MIAN, A. A.; SENADHEERA, P.; MAATHUIS, F. J. Improving Crop Salt Tolerance: Anion and Cation Transporters as Genetic Engineering Targets. Plant Stress, v.1, p. 64-72, 2011.
- MINAMI, K. Vermiculita. In: VII SEMANA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA DE JABOTICABAL, 7., Jaboticabal, 1982. 5p.
- MINAMI, K.; TESSARIOLI NETO, J.; PENTEADO, S. R. & ESCARPARI FILHO, J. A. Produção de mudas hortícolas de alta qualidade. Piracicaba: ESALQ/SEBRAE, 1994.155p.
- MIYAZAWA, M.; CHIERICE, G.O.; PAVAN, M.A. Amenização da toxidez de alumínio às raízes do trigo pela complexação com ácidos orgânicos. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 16, p. 209-215, 1992
- MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, v. 25, p. 239-250, 2002.
- MUNNS, R.; REBETZKE, G.; HUSAIN, S.; JAMES, R. A.; HARE, R. A. Genetic control of sodium exclusion in durum wheat. Australian journal of Agricultural Research, v. 54, p. 627-635, 2003.
- MUNNS, R.; TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, v. 59, p. 651-681, 2008.
- NETONDO, G. W.; ONYANGO, J. C.; BECK, E. Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Science, v.44, p.797-805, 2004.

- NEUMANN, G. & RÖMHELD, V. The Rhizosphere: Contributions of the Soil–Root Interface to Sustainable Soil Systems. In.: Biological Approaches to Sustainable Soil Systems, Cap.7, p.91-107, 2006.
- NEUMANN, P. M.; AZAIZEH, H.; LEON, D. Hardening of root cell walls: A growth inhibitory response to salinity stress. Plant, Cell and Environment, v. 16, p. 15-24, 1994.
- NIELSEN, K.L.; MILLER, C. R.., BECK, D. & LYNCH, J. P. Fractual geometry of root systems: Field observasions of contrastin genotypes of common bean (Phaseolus vulgaris L.) grown under different phosphorus regimes. Plant Soil, 2006: 181 190, 1999.
- NOGUEIRA, F. T. P. Integração dos mercados internos e externos de café. 120p. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.
- NOSKO, P.; BRASSARD, P.; KRAMER, J. R.; KERSHAW, K. A. The effect of aluminum on seed germination and early seedling establishment, growth, and resperation of white spruce (Picea glauca). Canadian Journal Botany, vol. 66, p. 2305-2310, 1988.
- NORMAN, M. J. T., PEARSON, C. J. & SEARLE, P. G. E. 1995. The ecology of tropical food crops. Cambridge University Press. Cambridge
- Ousley, M.A., Lynch, J.M. and Whipps, J.M., Effect of Trichoderma on plant growth: a balance between inhibition and growth promotion. Microb. Ecol. 26:277-285. 1993
- ORCUTT, D. M.; NILSEN, E. T. Physiology of plants under stress. New York, John Willey & Sons, 2000.
- PAIAO, G. D., NUTRIÇÃO MINERAL E ADUBAÇÃO DE GIRASSOL. IN: GAZZOLA 2012. A cultura do girassol. Piracicaba, 2012. P. 37-43.
- PARDO, J. M.; QUINTERO, F. J. Plants and sodium ions: keeping company with the enemy. Genome Biology, v. 3, 1017-1017, 2002.
- PARIDA, A. K.; DAS, A. B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Saafey, v. 60, p. 324-349, 2005.
- PARVAIZ, A.; SATYAWATI, S. Salt stress and phytobiochemical responses of plants a review. Plant Soil Environmental, v. 54, p. 89-99, 2008.
- PARKER, D. R.; KINRAIDE, T. B. & ZELAZNY, L. W. Aluminium speciation and phytotoxicity in dilute hydroxyl-aluminium solutions. Soil Science Society of Americam Journal, v. 52, p. 438-444, 1988.
- PATEL, A. D.; PANDEY, A. N. Growth, water status and nutrient accumulation of seedlings of Holoptelea integrifolia (Roxb.) Planch in response to soil salinity. Plant, Soil and Environment, v. 54, p. 367-373, 2008.
- PEIXOTO, A. M. Enciclopédia Agrícola Brasileira Girassol. Volume 5. Editora EDUSP. 2004

- PEREZ, S. C. J. G.A.; & PRADO, C. H. B. A. Efeitos de diferentes tratamentos prégerminativo e da concentração de alumínio no processo germinativo de sementes de Copaifera langsdorffii DESF. Revista Brasileira de Sementes, vol. 15, n. 1, p. 115-118, 1993.
- PEREIRA, W. E.; SIQUEIRA, D. L. de; PUIATTI, M.; MARTÍNEZ, C.A.; SALOMÃO, L. C. C. CECON, P. R. Growth of citrus rootstocks under aluminium stress in hydroponics. Scientia

Agricola, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 31-41, jan./mar. 2003.

- PIMENTEL, C. Metabolismo de carbono na agricultura tropical. Seropédica: Edur, 1998. 150 p.
- PIZA Jr, C. T. A cultura do maracujá. Campinas: SAA/CATI, 1991, 71 p.
- PINTO, L. F. E.; LAUS, J. A.; PAULETTO, E. A. Solos de várzea no sul do Brasil no sul do Brasil. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M. Arroz irrigado no sul do Brasil. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2004. p. 75-95.
- PITMAN, M. G. Ion transport into the xylem. Annual Review of Plant Physiology, v. 28, p. 71-88, 1977.
- POLLE, E.; KONZAC, C. F. & KITTRICK, J. A. Visual detection of aluminium tolerance levels in wheat by hematoxylim staining of seedling roots. Crop Science, v. 18, p. 823-827, 1978.
- POMPEU, G. B.; GRATÃO, P. L.; VITORELLO, V. A.; AZEVEDO, R. A. Antioxidant isoenzyme responses to nickel-induced stress in tobacco cell suspension culture. Scientia Agrícola, v. 65, p.548-552, 2008.
- PUGNAIRE, F. I., ENDOLZL. S. & PARDOS, J. 1994. Constrains by water stress on plant growth. In: Handbook of plant and crop stress. PESSARAKLI, M. (ed.) Marcel Dekker Inc. New York. Pp. 247 -260.
- PRAXEDES, S. C.; LACERDA, C. F. de; DAMATTA, F. M.; PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Salt tolerance is associated with differences in ion accumulation, biomass allocation and photosynthesis in cowpea cultivars. Journal of Agronomy and Crop Science, v.196, p.193-204, 2010.
- QIN J.; DONG W.Y.; HE K.N.; YU Y.; TAN G. D.; HAN, L.; DONG, M.; ZHANG Y. Y.; ZHANG, D.; LI, Z. A.; WANG, Z. L. NaCl salinity-induced changes in water status, ion contents and photosynthetic properties of Shepherdia argentea (Pursh) Nutt. seedlings. Plant, Soil and Environment, v. 56, p. 325-332, 2010.
- QIU, Q. S.; BARKLA, B. J.; VERA-ESTRELLA, R.; ZHU, J. K.; SCHUMAKER, K. S. Na+/H+ exchange activity in the plasma membrane of Arabidopsis. Plant Physiology, v. 132, p. 1041-1052, 2003.

Rangel AF, Rao IM, Horst WJ. 2007. Spatial aluminium sensitivity of root apices of two common bean (Phaseolus vulgaris L.) genotypes with contrasting aluminium resistance. Journal of Experimental Botany 58, 3895–3904.

Rangel AF, Rao IM, Horst WJ. 2009. Intracellular distribution and binding state of aluminum in root apices of two common bean (Phaseolus vulgaris) genotypes in relation to Al toxicity. Physiologia Plantarum 135, 162–173

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F. & CURTS, H. Biologia Vegetal. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1996. 728p.

RAVEN, J.A. Acquisition of nitrogen by the shoots of land plants: its occurrence and implications for acid-base regulation, New Phytologist, v.109, n.1, p.1-20, 1988.

RAVEN, J.A. & SMITH, F.A. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. New Phytol., v.76, p.415-431, 1976.

RAVEN, J.A.; FRANCO, A.A.; JESUS, E.L.; JACOB-NETO, J. H<sup>+</sup> extrusion and organic-acid synthesis in N<sub>2</sub>-fixing symbioses involving vascular plants. New Phytologist. 114. 369-389. 1990.

REDDY, A. S. N. Calcium: silver bullet in signaling. Plant Science, v. 160, p. 381-404, 2001.

REDDY, M. P.; VORA, A. B. Changes in pigment composition. Hill reaction activity and saccharides metabolism in bajra (Penisetum typhoides S & H) leaves under NaCl salinity. Photosynthetica, v. 20, p. 50-55, 1986.

REDDY, V. S.; REDDY, A. S. N. Proteomics of calcium-signaling components in plants. Phytochemistry, v. 65, p. 1745-1776, 2004.

REGO, G. M.; POSSAMAI, E. Efeito do sombreamento sobre o teor de clorofila e crescimento inicial do Jequitibá-rosa. Boletim de Pesquisa Florestal, Embrapa Florestas, p. 179-194, 2006.

RENAULT, S.; CROSER, C.; FRANKLIN, J. A.; ZWIAZEK, J. J. Effect of NaCl and Na2SO4 on redosier dogwood (Cornus stolonifera Michx). Plant Soil, v. 233, p. 261-268, 2001.

RENGASAMY, P. Transient salinity and subsoil constraints to dryland farming in Australian sodic soils: an overview. Australian Journal of Experimental Agriculture, v. 42, p. 351-61, 2002.

RENGEL, Z. The role of calcium in salt toxicity. Plant Cell Environment, v. 15, p. 625-632, 1992.

RIBEIRO, J. S.; LIMA, A. B.; CUNHA, P. C.; WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Estresse Abiótico em Regiões Semi-Áridas: Respostas Metabólicas das Plantas. In: MOURA, A. N.; ARAUJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. (orgs.)

Biodiversidade, potencial econômico e processos eco-fisiológicos em ecossistemas nordestinos, Recife, Comunigraf, 2007, 361p.

RICARD, J.L. Commercialization of Trichoderma-based mycofungicide, some problems and solutions. Biocontrol News Inform, v. 2, p.95-98, 1981.

RODRIGUEZ, M.B.; GODEAS, A.; LAVADO, R.S. Soil Acidity Changes in Bulk Soil and in Response to Nitrogen Fertilization. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v.39, n.17, p.2597-2607, 2008. Maize Rhizosphere.

ROIGER, T. C.; JEFFERS S. N.; CALDWELL, R.W. Occurrence of Trichoderma species in apple orchard and woodland soil. Soil Biology and Biochemistry, Britain, v. 43, n4, p. 353-359, 1991.

ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. Vicosa: Ed. UFV, (Caderno Didatico no 56), 45p, 1999.

ROSSI, R.O. Girassol. Curitiba: Tecnagro. Curitiba, 1998. 333p.

ROSSIELLO, R. O. P. & JACOB-NETO, J. Toxidez de alumínio em plantas: Novos enfoques para um velho problema. In: Fernandes, M. S. Nutrição mineral de plantas. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência de Solos, 2006. 432 p.

ROSOLEM, C. A. Recomendação e aplicação de nutrientes via foliar, 2002. Lavras- MG. 98p.

RUGGIERO, C. Propagação do mamoeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MAMOEIRO, 1, 1980, Jaboticabal. Anais. Piracicaba, 1980. p.79-87.

SALISBURY, F. B. & ROSS. C. W. plant Physiology. Belmont, California, Wadsnorth Publisching Company, 1991. 682 p

Ryan PR, DiTomaso JM, Kochian LV. 1993. Aluminium toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. Journal of Experimental Botany 44, 437–446.

SAIRAM, R. K.; TYAGI, A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science, v. 86, p. 407-421, 2004.

SALVADOR, J. O.; MOREIRA, A., MALAVOLTA, E.; CABRAL, C. P. Influência do alumínio no crescimento e na acumulação de nutrientes em mudas de goiabeira. R. Bras. Ci. Solo, 24:787-796, 2000

SAMUELS, G.J. *Trichoderma*, a review of biology and sistematics of the genus. Mycol Res, v. 100, p. 923-35, 1996.

SAMUELS, G.J.; PARDO-SCHULTHEISS, R.; HEBBAR, K.P.; LUMSDEN, R.D.; BASTOS, C.N.; COSTA, J.C.; BEZERRA, J.L. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. Mycol Res, v.104, p. 760-64, 2000.

- SÃO JOSÉ, A.R. Maracujá o Brasil já é grande produtor mundial. São Paulo, Toda Fruta, 7: 22-23, 1986.
- SANTOS, L.S. Efeito integrado de fatores meteorológicos na esporulação de *Trichoderma stromaticum*, micoparasita do agente causal da doença vassoura-de-bruxa em cacau. (Dissertação de Mestrado). Ilhéus-BA, Universidade Estadual de Santa Cruz, 72 p., 2005.
- SANTOS, C. A. C. et al. Rúcula em cultivo hidropônico submetida a diferentes concentrações de alumínio. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 26, n. 6, p. 905-912, 2010.
- SÃO JOSÉ, A.R.; MARIN, S.L.D. Propagação do mamoeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MAMOEIRO, 2, 1980, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: Funep, 1988. p. 177-194
- SCHRADER, L. E. 1985. Selection for metabolic in maize In: Exploitation of physiological and genetic variability to enhance crop productivity. HARPER, J. E., SCHRADER, L. E. & HOWELL, R.W.(eds.) American Society of Plant Physiology publ. pp. 79 89
- SCHROEDER, J. I.; UOZUMI, N. Enhanced salt tolerance mediated by AtHKT1 transporter-induced Na+ unloading from xylem vessels to xylem parenchyma cells. The Plant Journal, v. 44, p. 928-938, 2005.
- SCOTT, B. J.; FISCHER, J. A. & SPHOR, L. J. Tolerance of australiam wheat varieties to aluminum toxicity. Communications in Soil Science and Plant Analusis, v. 23, n. 5/6, p. 509-526, 1992
- SHARMA, P. K.; HALL, D. O. Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghun. Journal of Plant Physiology, v.138, p.614-619, 1991.
- SHEREEN, A.; ANSARI, R.; RAZA, S.; MUMTAZ, S. KHAN; M. A. ALI KHAN, M. Salinity induced metabolic changes in rice (Oryza sativa L.) seeds during germination. Pakistan Journal of Botany, v. 43, p. 1659-1661, 2011.
- SHI, H.; ISHITANI, M.; KIM, C.; ZHU, J. K. The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS 1 encodes a putative Na+/H+ antiporter. Proceeding of the National Academy of Science USA, v. 97, p. 6896-6901, 2000.
- SHI, H.; QUINTERO, F. J.; PARDO, J. M.; ZHU, J. K. Role of SOS 1 as a plasma membrane Na+/H+ antiporter that controls long distance Na+ transport in plant. Plant Cell, v. 14, p. 465-477, 2002.
- SHI, H.; WU, S. J.; ZHU, J. K. Overexpression of a Plasma membrane Na+/H+ antiporter improves salt tolerance in Arabidopsis. Nature Biotechnology, v. 21, p. 81-85, 2003.

- SHIOGA, P. S. 1990 Controle da hidratação e desempenho das sementes de feijão (Phaseolus vulgaris L.) .Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, universidade São Paulo, Piracicaba.
- SILVA, A. C. Avaliação da tolerancia ao aluminio em plantas de maracujazeiro e mamoeiro. Dissertação de Mestrado. UFRRJ. Seropedica-RJ. 2009
- SILVA, V. N., GUZZO, S. D., LUCON, C. M. M., HARAKAVA, R.; Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.46, n.12, p.1609-1618, dez. 2011
- SILVA, R. N.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M; PEREIRA, A. L.; DUARTE, G. L. Physiological quality of barley seeds submitted to saline stress. Revista Brasileira de Sementes, v. 29, p. 40-44, 2007.
- SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIEGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: SIRINGAM. K.; JUNTAWONG, N.; CHA-UM, S.; KIRDMANEE, C. Relationships between sodium ion accumulation and physiological characteristics in rice (Oryza sativa L. spp. indica) seedlings grown under iso-osmotic salinity stress. Pakistan Journal of Botany, v. 41, p. 1837-1850, 2009.
- SIMONOVICOVA, M.; HUTTOVA, J.; MISTRIK, I.; SIROKA, B.; & TAMAS, L. Root growth inhibition by aluminium is probably caused by cell death due to peroxidase-mediated hydrogen peroxide producuin. Protoplasma, 224: 91-98, 2004.
- SIVAGURU, M. & HORST, W. J. The distal parto of the transition zone is the most aluminium sensitive apical root zone of maize. Plant Physiol., 116: 155 163, 1998.
- SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI) Arroz irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil / Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado; V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, XXVII Reunião da Cultura do Arroz Irrigado. Pelotas: SOSBAI, 2007. 161 p.
- STAAL, M.; MAATHUIS, F. J. M.; ELZENG, T.M.; OBERBEEK, J. H. M.; PRINS, H. B. A. Na+/H+ antiport activity of the salt-tolerant Plantago maritima and the salt-sensitive Plantago media. Physiologia Plantarum, v. 82, p. 179-184, 1991.
- STEINBERG, F. Maracujá: Guia prático para um manejo equilibrado. São Paulo, Nobel, 1988. 64p.
- SUN P, TIAN QY, ZHAO MG, DAI XY, HUANG JH, LI LH, ZHANG W.H. Aluminum-induced ethylene production is associated with inhibition of root elongation in Lotus japonicus L. Plant and Cell Physiology 48, 1229–1335.2007.
- SUZUKI, O.Y. Considerações econômicas brasileiras. In: RUGGIERO, C. ed. Maracujá. Ribeirão Preto: Legis Suma, 1987. p.8-20.
- SWARUP R, KRAMER EM, PERRY P, KNOX K, LEYSER HMO, HASELOFF J, BEEMSTER GTS, BHALERAO R, BENNETT M.J. Root gravitropism requires lateral

- root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal. Nature Cell Biology 7, 1057–1065. 2005.
- SZABOLCS, I. Salt-Affected Soils. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989.
- TANG VAN HAI; NGA, T. T. & LAUBELUOT, H. Effect of aluminium on the mineral nutrition of rice. Plant and Soil, v. 114, p. 173-185, 1995.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.
- TAMAS, L.; BUDIKOVA, S.; SIMINOVICOVA, M.; HUTTOVA, J.; SIROKA, B.; MISTRIK, I. Rapid and simple method for Al-toxicity analysis in emerging barley roots during germination. Biologia Plantarum, vol. 50 (1), p. 87-93, 2006
- TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na+ tolerance and Na+ transport in higher plants. Annals of Botany, v. 91, p. 503-527, 2003.
- TIMM, F. C. Aspectos fisiológicos e bioquímicos de genótipos de aveia branca em resposta à salinidade. 2012. 85 f. Tese (Doutorado) -. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.
- TOCAFUNDO, F. Avaliação de isolados de Trichoderma spp. no controle de Phytophthora palmivora em mamoeiro. 2008. 54p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itabuna.
- THOMAS, H. Cytogenetics of avena. In: MARSHALL, H.G.; SORRELLS, M.E. Oat science and technology. Madson: American Society of Agronomy, 1992. p. 473-507.
- THOMSON, L. A. J.; EVANS, B. *Terminalia catappa* (tropical almond), ver. 2.2. In: Elevitch, C.R. (ed.). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. Permanent Agriculture Resources(PAR), Hōlualoa, Hawai,i, 2006. Disponível em http://www.traditionaltree.org. Acessado em outubro de 2013.
- TOENISSEN, G. H. The Rockefeller foundation's international program on rice biotechnology. In: ALTMAN, D. W.; WATANABE, K. N. (Eds). Plant Biotechnology in Developing Countries, R. G. Lands Company, 1995. p.193-212.
- TOLRÁ, R. P..; POSCHENRIEDER, C..; LUPPI, B & BARCELÓ, J. Aluminium-induced changes in the profiles of both organic acids nad phenolic substances underlie Al tolerance in *Rumex acetosa* L. Environ. Exper . Bot, 54: 231-238, 2005.
- TOPPA, E. V. B.; BRAMBILLA, W. P. Melhoramento de plantas e a salinidade dos solos. Revista Verde, Mossoró, v.6, p. 21-25, 2011.
- TURKAN, I.; DEMIRAL, T. Recent developments in understanding salinity tolerance Environmental and Experimental Botany, v. 67, p. 2-9, 2009.
- VALE, F. R.; RENÓ, N. B.; CURI. N.; SIQUIERA, J. O. & CARVALHO, J. C. B. Sensibilidade de quinze espécies arbóreas à acidez do solo: efeito no crescimento de raízes. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 24, Goiânia, 1993. Resumos 2° vol 259-260 p.

VALDEBENITO-SANHUENZA, R. M. Uso de formaldeído e Trichoderma para prevenir a recolonização de solo por Phytophthora em pomares de macieira). Anais, II Reunião de Controle Biológico de Doenças de Plantas. Campinas, Fundação Cargil, p.55, 1987

VANDERPLANK, J. Passionflowers. Massachusetts: MIT Press, 196. 224 p.

VASCONCELOS, S. S. Metodos de avaliação da tolerácia à toxidade de alumínio em cultuvares da arroz (*Oryza sativa L.*). Seropédica: UFRRJ, 1997, 137p. Tese de Mestrado.

VASCONCELOS, S. S.; ROSSIELLO, R. O. P. & JACOB-NETO, J. Parâmetros morfológicos para estabelecer tolerância diferencial à toxicidade de alumínio em cultivares de arroz. Pesq. Agropec. Bras., 37:357-363, 2002.

VERDIAL, M. F.; LIMA, M. S.; TESSAIROLI NETO, J.; DIAS, C. T. S. & BARBANO, M. T. Métodos de formação de mudas de maracujazeiro amarelo. Scientia Agrícola, Piracicaba, v. 57, n. 4, p.795-798, 2000.

Villela FA (1998) Water relations in seed biology. Scientia Agricola, 5:98-101.

VOGEL J.P., WOESTE K.E., THEOLOGIS A. AND KIEBER J.J. 1998. Recessive and dominant mutations in the ethylene biosynthetic gene *ACS5* of *Arabidopsis* confer cytokinin insensitivity and ethylene overproduction, respectively. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 4766–4771.

WAGATSUMA, T.; KAWASHIMA, T. & TAWARYA, K. Comparative stainability of plant root cells with basic dye (methylene blue) in association with aluminium tolerance. Comm. Soil Sci. Plant Anal., 19: 1207-1215, 1998.

WENZL, P,; MANCILLA, L. I.; MAYER, J. E.; ALBERT, R. & RAO, I. M. Simulating infertile acid soils with nutrient solutions: the efects on Brachiarria species. Soil Sci. Soc. J., 67: 1457-1469, 2003

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. Enciclopédia Biosfera, v. 6, p. 1-23, 2010.

WINNAAR, W. Clonal propagation of papaya in vitro. Plant Cell Tissue and Organ Culture, Dordrecht, 12:305-310, 1988.

YU M, SHEN R, XIAO H. Boron alleviates aluminum toxicity in peã (Pisum sativum). Plant and Soil 314: 87–98. 2009.

ZHANG, G & TAYLOR, G. J. Effect of aluminum on growth and distribution of aluminum in tolerant and sensive cultivars of Triticum aestivum L.. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v. 19, n. 7 – 12, p. 1195-1205, 1998.

ZHANG, H. X.; BLUMWALD, E. Transgenic salt tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. Nature Biotechnology, v. 19, p 765-768, 2001.

- ZHANG, H.; IRVING, L. J.; McGILL, C.; MATTHEW, C.; ZHOU, D.; KEMP, P. The effects of salinity and osmotic stress on barley germination rate: sodium as an osmotic regulator. Annals of Botany, v. 106, p. 1027-1035, 2010.
- ZHAO, J.; GUO, S.; CHEN, S.; ZHANG, H.; ZHAO, Y. Expression of yeast YAP1 in transgenic arabidopsis results in increased salt tolerance. Journal Plant Biology, v. 52, p. 56-64, 2009.
- ZHENG, S.J., MA J.F., MATSUMOTO, H. Continuous secretion of organic acids is related to aluminium resistance during relatively long-term exposure to aluminium stress. Physiol Plant 103: 209–214.(1998)
- ZHU, J. K. Plant salt tolerance. Trends Plant Science, v. 6, p. 66-71, 2001.
- ZHU, J. K. Regulation of ion homeostasis under salt stress. Current opinion in Plant Biology, v. 6, p. 441-445, 2003.
- ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review Plant Biology, v. 53, p. 247-273, 2002.
- ZONTA, E. Estudos da tolerancia ao aluminio em arroz de sequeiro e seus efeitos sobre a interface solo-planta. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2003. 139p.