

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO

**O FÓSFORO, A MATÉRIA ORGÂNICA E A MICORRIZA NO
CAFEEIRO (*Coffea arabica* L.).**

FERNANDO GURIDI IZQUIERDO

Sob orientação do Professor

Ph.D. Gabriel de Araújo Santos

E a co-orientação dos Professores

Ph.D. Roberto O. Pereyra Rossiello

Ph.D. Ricardo L. Louro Berbara

**Tese submetida como requisito parcial à obtenção
do grau de Philosophiae Doctor em Agronomia,
Área de Concentração em Ciência do Solo**

**Seropédica, Rio de Janeiro
2000**

**O FÓSFORO, A MATÉRIA ORGÂNICA E A MICORRIZA NO
CAFEEIRO (*Coffea arabica* L.).**

FERNANDO GURIDI IZQUIERDO

Aprovada em 06/11/2000

BANCA EXAMINADORA

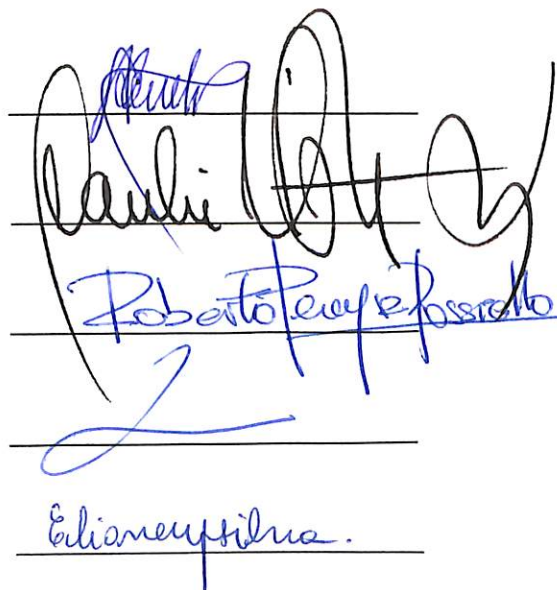
Prof. Ph.D. Gabriel de Araújo Santos
(UFRRJ/ Depto. de Solos)

Prof. Ph.D. Manlio Silvestre Fernandes
(UFRRJ/Depto. Solos)

Prof. Ph.D. Roberto O. Pereyra Rossiello
(UFRRJ/Depto. Solos)

Prof. Ph.D. Luciano Pasqualoto Canellas
(UENF/Lab. de Solos)

Profa. Ph.D. Eliane M. Ribeiro da Silva
(EMBRAPA/Agrobiologia)



The image shows five handwritten signatures in blue ink, each written over a horizontal line. From top to bottom, the signatures correspond to: Gabriel de Araújo Santos, Manlio Silvestre Fernandes, Roberto O. Pereyra Rossiello, Luciano Pasqualoto Canellas, and Eliane M. Ribeiro da Silva. The signatures are stylized and cursive.

DEDICATÓRIA

- Aos mais de 20 000 irmãos que ofereceram suas vidas antes e depois de 1959 para construir, consolidar e preservar as oportunidades que me permitiram chegar até aqui.
- A Danny de la Orden Guridi, meu neto, como modesta prova de que não economizarei sacrifícios, nem esforços, nem sangue se preciso, para garantir à sua geração condições ainda melhores das que eu tive.

AGRADECIMENTOS

Sinto a necessidade de expressar minha mais sincera gratidão aos dois Departamentos que fizeram possível a realização desse trabalho; o Departamento de Química da Faculdade de Agronomia da Universidade Agrária de Havana, e o Departamento de Solos do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Ao primeiro pela colaboração de colegas, técnicos e funcionários na execução dos experimentos feitos em Cuba e por terem assumido e cumprido as tarefas que deixei durante o tempo que estive cursando o Doutorado. Ao segundo por ter me brindado todas as facilidades para vencer os requisitos acadêmicos do Curso de Doutorado em Agronomia-Ciências do Solo e desenvolver os experimentos executados no Brasil.

Agradeço a cada um dos Professores e Pesquisadores que lecionaram as disciplinas que cursei, os conhecimentos que me ofereceram e a profissionalidade e competência que demonstraram.

Ficarei eternamente grato pela maneira solidária com que os funcionários do Dpto de Solos, do IA, da Biblioteca Central e demais dependências da UFRRJ me facilitaram o processo inicial de adaptação quando cheguei, e durante o tempo restante até hoje. Em particular à Aparecida de Fátima Porto (“Cida”) e o Pedro Alves-Pereira (“Pedrão”)

agradeço, além, as cotidianas aulas de esforço, sacrifício e dignidade que, mesmo sem eles perceberem, me ofereceram.

Tenho também que agradecer as atenções recebidas da Coordenadoria e da Secretaria do Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciências do Solo, pelas inúmeras vezes que me deram o apoio que precisava, para cumprir as formalidades legais requeridas no caso dos alunos estrangeiros.

A todos os colegas do curso agradeço a solidariedade com que me tratam, especialmente aos que matricularam junto comigo (Francisco, Alessandra, Conceição, etc).

Aos Professores e Pesquisadores que constituíram as bancas do Exame de Qualificação e da Defesa da Tese agradecerei sempre o tempo, a inteligência, a sabedoria e a experiência que colocaram à minha disposição. Nesse sentido desejo destacar a contribuição do Prof. Dr. Gabriel de Araújo Santos, meu Orientador, e dos Professores Dr. Roberto O. Pereyra Rossiello e Dr. Ricardo L. Louro Berbara, meus Co-orientadores, pois foi muito mais além da formação acadêmica.

Ao Dr. Luciano Pasqualoto Canellas agradeço a sincera e profunda amizade que me permitiu construir, baseada na comunhão de interesses e no entusiasmo compartilhado pelo trabalho, e que jamais será destruída.

A essa incrível pessoa, Teresinha Sena Paciolo, com quem compartilhei sucessos, fracassos, alegrias e tristezas ao longo de todo este tempo, agradecerei cada minuto convivido com ela e com a sua maravilhosa família. Tomara que seja bem breve o tempo necessário para o reencontro.

BIOGRAFIA

Fernando Guridi Izquierdo nasceu em Havana, Cuba, em 3 de Janeiro de 1951, no seio de uma família humilde. Filho de Fernando Guridi Soa (frentista, quando empregado) e Hilda Izquierdo López (costureira de sapatos).

Concluiu sua formação como Licenciado em Química, em dezembro de 1973 na Universidade de Havana e a partir de fevereiro de 1974 começou trabalhar como professor no Departamento de Ciências Básicas, da Faculdade de Ciências Agropecuárias da própria Universidade. Até hoje desempenha essa função, mas pelas transformações estruturais acontecidas na educação superior do seu país, agora pertence ao Departamento de Química da Faculdade de Agronomia da Universidade Agrária da Havana (*UNAH*).

Em 1996 defendeu seu Mestrado em Química Agrícola na *UNAH* e em 1998 iniciou os estudos de Doutorado no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Ciências do Solo, sob a orientação do Prof. Ph.D. Gabriel de Araújo Santos. Dois anos e oito meses depois foi elaborada a Tese.

INDICE GERAL

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. O cafeeiro.....	5
2.2. O fósforo como elemento essencial	7
2.3. A matéria orgânica do solo	8
2.4. Biofertilizantes	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Distribuição do fósforo foliar em plantas adultas submetidas a condições de nutrição fosfática (Experimento I e II).....	23
3.2. Efeitos de diferentes fontes de matéria orgânica e micorriza em mudas de café (Experimentos III, IV e V)	28
3.3. Efeitos fisiológicos das substâncias húmicas sobre mudas de café (Experimentos VI e VII)	34
3.4. Caracterização parcial estrutural dos ácidos húmicos extraídos do vermicomposto (Experimento VIII).....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1.a. Experimento I	39
b. Experimento II	49
4.2.a. Experimento III	55
b. Experimento IV.....	60
c. Experimento V	70
4.3.a. Experimento VI	72
b. Experimento VII	74
4.4. Experimento VIII	77

5. CONCLUSÕES	82
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
7. APÊNDICES	106

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Conteúdo foliar de fósforo inorgânico durante a floração e a frutificação no quinto ano. (Experimento I)p. 40
- Figura 2. Conteúdo foliar de fósforo inorgânico durante a floração e a frutificação no sexto ano. (Experimento I)p. 40
- Figura 3. Conteúdo de fósforo foliar como fitina durante a floração e a frutificação no quinto ano. (Experimento I)....p. 41
- Figura 4. Conteúdo de fósforo foliar como fitina durante a floração e a frutificação no sexto ano. (Experimento I)....p. 42
- Figura 5. Conteúdo de fósforo foliar esterificando monossacarídeos durante as etapas de floração e frutificação no quinto ano. (Experimento I)....p. 43
- Figura 6. Conteúdo de fósforo foliar esterificando monossacarídeos durante as etapas de floração e frutificação no sexto ano. (Experimento I)....p. 44
- Figura 7. Conteúdo de fósforo como nucleotídeos livres durante as etapas de floração e frutificação no quinto ano.(Experimento I)....p. 44
- Figura 8. Conteúdo de fósforo como nucleotídeos livres durante as etapas de floração e frutificação no sexto ano.(Experimento I)....p. 45
- Figura 9. Conteúdo total de fósforo nas frações durante as etapas de floração e frutificação do quinto ano.(Experimento I)....p. 46
- Figura 10. Fósforo foliar total.(Experimento II)....p. 53
- Figura 11. Velocidades médias diárias de produção de área foliar.(Experimento III)....p. 56
- Figura 12. Relação área foliar/altura. (Experimento III)....p. 57

- Figura 13. Conteúdo de carboidratos totais foliares.(Experimento IV)....p. 60
- Figura 14. Conteúdo de carboidratos redutores foliares.(Experimento IV)....p. 62
- Figura 15. Massa foliar específica nas mudas. (Experimento IV)....p. 67
- Figura 16. Efeito de diferentes concentrações de humato sobre a área radicular do milho.
(Experimento VI)....p. 72
- Figura 17. Comprimento do sistema radicular do milho após tratamento com humato.
(Experimento VI)....p. 73
- Figura 18. Efeitos de diferentes concentrações de humato sobre a área e o comprimento de
raízes de plântulas de café.(Experimento VI)....p. 73
- Figura 19. Espectro UV-Vis dos ácidos húmicos do vermicomposto.
(Experimento VIII)....p. 77
- Figura 20. Espectro IV dos ácidos húmicos do vermicomposto.
(Experimento VIII)....p. 78
- Figura 21. Espectro RMN ^{13}C dos ácidos húmicos do vermicomposto.
(Experimento VIII)....p. 79

INDICE DE TABELAS

- Tabela 1. Distribuição relativa do fósforo foliar.(Experimento I)....p. 47
- Tabela 2. Quantidades de fósforo nas frações durante as etapas de floração e frutificação.
(Experimento II)....p. 50
- Tabela 3. Área foliar das mudas obtidas com quatro fontes de matéria orgânica.
(Experimento III)....p. 55
- Tabela 4. Massa foliar específica e pigmentos verdes nas mudas obtidas com quatro fontes
de matéria orgânica.(Experimento III)....p. 59
- Tabela 5. Conteúdo de pigmentos fotossintéticos nas mudas.(Experimento IV)....p. 64
- Tabela 7. Conteúdo de carbono prontamente oxidável e de fósforo solúvel em meio ácido.
(Experimento IV)....p. 68
- Tabela 8. Indicadores do conteúdo de massa seca foliar em mudas.(Experimento V)....p. 71
- Tabela 9. Conteúdo foliar de pigmentos verdes e formas de fósforo.(Experimento V)...p. 71
- Tabela 10. Atividade hidrolítica de ATP em raízes de plântulas de milho.
(Experimento VII)....p. 74
- Tabela 11. Atividade hidrolítica de ATP em raízes de plântulas de café.
(Experimento VII)....p. 76
- Tabela 12. Indicadores quantitativos dos grupamentos funcionais dos ácidos húmicos do
vermicomposto.(Experimento VIII)....p. 81

INDICE DE QUADROS

- Quadro 1. Descrição resumida dos tratamentos. (Experimento I)....p. 24
- Quadro 2. Composição dos tratamentos.(Experimento II)....p. 27
- Quadro 3. Representação esquemática dos tratamentos.(Experimento IV)....p. 30
- Quadro 4. Representação esquemática dos tratamentos.(Experimento V)....p. 33
- Quadro 5. Atribuições das bandas do espectro IV dos ácidos húmicos do vermicomposto.
(Experimento VIII)....p. 78
- Quadro 6. Atribuições dos sinais do espectro RMN ^{13}C dos ácidos húmicos.
(Experimento VIII)....p. 80

ÍNDICE DOS APÊNDICES

Tabela 13. Indicadores da fertilidade original do solo utilizado nos experimentos

I, II , III e IV.....p. 106

Tabela 14. Conteúdo de M.O., N, P e K nas fontes de matéria orgânica.

(Experimento II)....p. 107

Tabela 15. Caracterização química parcial das fontes de matéria orgânica.

(Experimento IV)....p. 107

Tabela 16. Indicadores da fertilidade do solo. (Experimento V)....p. 107

Tabela 17. Caracterização parcial do vermicomposto.(Experimento V)....p. 108

RESUMO

O fósforo contido em quatro de suas formas metabolicamente ativas nas folhas, foi determinado durante as etapas de floração e de frutificação em plantas adultas de café submetidas a diferentes condições de nutrição fosfórica. Foram encontradas diferenças quantitativas relevantes no fósforo inorgânico livre (P_i), no fósforo acumulado como fitina (P_{fit}) e no que esterifica monossacarídeos (P_{hf}), quando comparadas as etapas fisiológicas estudadas, independentemente da idade e condição nutricional das plantas. A distribuição relativa do fósforo nas frações avaliadas foi diferente em cada etapa fisiológica. O fósforo total (digestão ácida) não refletiu as diferenças anteriores.

Foram testadas quatro fontes de matéria orgânica para obtenção de mudas de café. Diferenças significativas em indicadores de crescimento e bioquímico-fisiológicos foram encontrados entre as mudas. A fonte mais promissora foi o vermicomposto.

Quando combinados o vermicomposto e a inoculação com FMA, foram observadas mudanças nos conteúdos de carboidratos redutores e de pigmentos fotossintéticos. Pela primeira vez na cultura do cafeeiro foi detectado que os ácidos húmicos extraídos do vermicomposto exerceram efeitos estimuladores sobre o desenvolvimento e a atividade hidrolítica de ATP em vesículas isoladas de raízes das plântulas.

A caracterização estrutural realizada dos ácidos húmicos do vermicomposto confirmou a presença dos grupamentos funcionais típicos dos ácidos húmicos naturais do solo.

ABSTRACT

Four active forms of foliar phosphorus metabolism were extracted and P content in each one was determined during flowering and fructification of two coffee plantations, submitted at different phosphoric nutritional conditions. Significant differences were detected in free inorganic phosphorus (Pi), fitine phosphorus (Pfit) and monosaccharide phosphates (Phf) between flowering and fructification, independently of plant age or nutritional condition. The total P content obtained by acid digestion doesn't reflect these variations.

Substrates formed by soil, vermicompost and mycorrhizal arbuscular fungi promoted changes in foliar reductors carbohydrates and photosynthetic pigments contents in coffee seedlings.

Humic acids extracted from vermicompost stimulated coffee seedlings root development and hydrolytic activity of ATP in isolated root vesicles.

Similar functional groups of soil humic acids were detected in the humic acids extracted from vermicompost.

1. INTRODUÇÃO

A exploração agrícola da cultura cafeeira representa uma importante fonte de renda para um número considerável de países do chamado Terceiro Mundo, entre eles Brasil e Cuba. Vários governos têm definido estratégias para orientar o trabalho dos pesquisadores das Ciências Agrárias na procura de novas tecnologias para esta cultura, visando a recuperação e estabilização das produções e que cumpram as exigências atuais de qualidade, inclusive diminuindo o uso de insumos químicos de alto custo energético, poluentes do meio ambiente.

Em 1990 o Ministério de Ciência Tecnologia e Meio Ambiente de Cuba, estabeleceu um Programa Nacional para a recuperação da produção cafeeira, e solicitou através da união e integração das Universidades Agrárias e Centros de Pesquisas do país, esforços para conseguir, no prazo mais breve possível, a reformulação total da tecnologia cafeeira, tendo ainda em consideração que a aplicação de tais avanços, principalmente nas regiões montanhosas, teria como objetivo social adicional criar novas oportunidades de emprego e diminuir o fluxo de pessoas para os núcleos urbanos.

Nesse contexto, houve uma redefinição dos estudos a serem realizados, alguns dos quais foram desenvolvidos sob a responsabilidade das Faculdades e Centros de Pesquisas da Universidade Agrária da Havana. Essa foi a origem das pesquisas que aparecem aqui estruturadas como Tese de Doutorado.

A cultura do café é reconhecidamente pouco exigente em fósforo (P) quando consideradas as quantidades relativamente pequenas desse elemento que são absorvidas durante o ciclo de vida (Fernandez et al., 1988). De um modo geral, as análises foliares mostram (quando o solo não apresenta níveis extremadamente críticos de deficiência de P) um conteúdo total (obtidos a partir da digestão do material foliar) quase sempre em torno de 0,2 % do elemento com respeito à massa seca das folhas. Esse indicador nem sempre consegue ser útil para a previsão de perturbações metabólicas em plantas adultas.

Guridi & Vento (1985), trabalhando com plantas jovens de café na fase de crescimento vegetativo reportaram que, mesmo após um período de 5 semanas de carência absoluta de P, a adição de uma pequena quantidade de ^{32}P teve distribuição idêntica nas folhas das plantas onde foi mantido o fornecimento contínuo do elemento. Esses autores concluíram que a distribuição dos diversos tipos de compostos fosforados foliares está mais em função da etapa fisiológica do que da disponibilidade do elemento no substrato.

Na literatura científica consultada praticamente inexistem informações sobre o metabolismo foliar do P no cafeeiro em plantações em produção. A longevidade de alguns cafezais em solos onde não existe uma reserva abundante desse elemento essencial é um fato de muito interesse.

Uma das hipóteses que motivaram uma parte dos experimentos que compõem o presente documento foi a de que o estudo da dinâmica dos compostos fosforados foliares

poderia fornecer informações básicas valiosas para se encontrar uma via que permita detectar, com antecedência suficiente, qualquer transtorno metabólico correspondente à disponibilidade do P no solo. Além disso, a caracterização do P foliar provavelmente poderia ser usada para definir, junto a outros indicadores bioquímico-fisiológicos, a qualidade das mudas pois, na fase de viveiro da cultura, já está demonstrado o papel relevante que desempenha o P, principalmente sobre o desenvolvimento do sistema radicular (Guridi, 1996). Até hoje somente critérios morfológicos são tidos em conta na hora de escolher o momento do transplante.

Muitas das pesquisas desenvolvidas nos últimos anos referentes ao fósforo, são dirigidas à procura de métodos para avaliar as diferentes frações existentes no solo (Novais & Smith, 1999), correlacionando-as com o crescimento da cultura, o conteúdo total foliar, o déficit hídrico, a concentração de nitrogênio e a evapotranspiração (Gutierrez-Boem & Thomas, 1997; Belanger & Richard, 1999 e Ebdon et al., 1999).

Uma das medidas que contribui para manutenção de produções crescentes de café é a renovação permanente dos cafezais. Para isso é preciso dispor de uma produção constante de mudas de ótima qualidade, com menor custo econômico e ambiental possível. Nesse sentido o reaproveitamento de resíduos orgânicos (tanto da própria agricultura quanto de origem urbana), em combinação ou não com recursos biológicos do solo, vem sendo uma preocupação maior dos pesquisadores.

Vários autores têm realizado esforços para caracterizar a composição e as propriedades de diversas fontes alternativas de matéria orgânica e também os efeitos de diversos microorganismos (Ruiz, 1996; Guridi, 1996; Lamin et al., 1996; Dayal & Agawal,

1998; Sainz et al., 1998; Premuzic et al., 1998; Masini et al., 1998; Lamin et al., 1998; Canellas, 1999).

Crescente também é o número de trabalhos desenvolvidos com objetivo de detectar e interpretar os efeitos fisiológicos diretos sobre as plantas dos componentes da matéria orgânica do solo, com ênfase especial nas substâncias húmicas (Young & Chen, 1997; Pinton et al., 1997; Mohamed et al., 1998; Muscolo et al., 1999; Nardi et al., 1999; Pinton et al., 1999).

Levando-se em conta as considerações anteriores foram executados vários experimentos que compõem o presente trabalho, tentando atingir os seguintes objetivos:

- Avaliar o comportamento de alguns dos componentes do metabolismo do fósforo foliar em plantas de café em diferentes etapas fisiológicas e condições de nutrição fosfórica.

- Caracterizar os efeitos da matéria orgânica e da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares sobre indicadores bioquímico-fisiológicos em mudas de café, visando combinações que diminuam o consumo de fertilizantes fosforados minerais e para que se possa produzi-las com boa qualidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O cafeeiro.

2.1.1. Algumas características gerais

Segundo Fernández et al. (1988) o cafeeiro pertence à família *Rubiaceae* e gênero *Coffea*. São três as espécies mais abundantes: *Coffea arabica* Linneo, *Coffea canephora* e *Coffea liberica*.

Dentre a espécie *arabica*, as variedades que mais se destacam pela produtividade e que maior frequência aparecem nas principais regiões produtoras do mundo, são: Típica, Caturra, Borbón e Mundo Novo.

O cafeeiro arábica (*Coffea arabica*) é uma planta tropical de altitude, adaptada a clima úmido, de temperaturas amenas, que são as condições que prevalecem nos altiplanos de Etiópia, região considerada de origem da espécie. Nas regiões com temperaturas médias anuais muito superiores a 22,5 °C a frutificação pode ser significativamente afetada pelo abortamento das flores.

O cafeeiro robusta (*Coffea canephora*), oriundo de regiões equatoriais baixas, quentes e úmidas, está adaptado a condições de temperaturas elevadas com médias anuais entre 22 e 26 °C.

De acordo com Valdés (1985), indicadores bioquímico-fisiológicos como o conteúdo de pigmentos fotossintéticos, a relação entre clorofila “a” e clorofila “b”, e a capacidade fotossintética potencial de fixação do CO₂, classificam o cafeeiro como uma planta C-3. DaMatta et al. (1997) encontraram variações na eficiência fotoquímica entre espécies de *Coffea* e entre estações climáticas.

2.1.2. Requerimentos nutricionais do cafeeiro.

Segundo Fernández et al.(1988) as necessidades de suplementos nutricionais no cafeeiro estão em dependência, principalmente, da espécie e variedade, da etapa de desenvolvimento, da fertilidade do solo, da densidade de plantação e das condições climáticas. Ainda os adubos minerais são muito empregados na cultura do cafeeiro, sobretudo no momento do estabelecimento dos cafezais (entre 30 e 40 g de P₂O₅, 15 e 20 g de K₂O e aplicações anuais superiores a 30 g de N por planta).

Nas etapas de crescimento vegetativo (após estabelecimento da plantação) e de produção esses fatores indicados anteriormente têm sido corroborados como determinantes pelas pesquisas (Medina et al., 1994; Viñales et al., 1994).

O nitrogênio é o elemento mineral mais requerido pelo cafeeiro. Quando o solo não possui disponibilidade suficiente a eficiência da fotossíntese experimenta uma queda considerável e o crescimento é afetado (Nunes et al., 1993).

Ramalho et al. (1997) comprovaram que plantas de café mantidas sob sombra tiveram a capacidade fotossintética, a conductância foliar e a capacidade máxima de

carboxilação reduzidas quando exposta à irradiância natural com níveis baixos de nitrogênio disponível.

Em *Coffea arabica* L têm sido estudados suficientemente os coeficientes de aproveitamento de vários fertilizantes minerais a partir da correlação entre indicadores do crescimento e a extração dos elementos minerais do solo, ou o seu conteúdo foliar para diferentes condições de cultivo (Viñales et al., 1994, Medina et al., 1994).

Durante a etapa de obtenção das mudas de café, o fósforo desempenha um papel fundamental, pois estimula o desenvolvimento do sistema radicular o que favorece a absorção dos demais elementos nutrientes (Guridi, 1996). Por isso muitas pesquisas têm sido executadas procurando procedimentos naturais que possam garantir a máxima exploração das disponibilidades de fósforo existentes no solo, para diminuir o uso de adubos fosfáticos. A utilização dos fungos micorrízicos arbusculares tem demonstrado ser uma das alternativas mas eficientes para atingir esse objetivo (Siqueira, 1996; Siqueira & Klauberg, 1998).

2.2. O fósforo como elemento essencial.

Segundo a opinião de Novais & Smith (1999) todas as formas do fósforo existentes no sistema solo-planta são interdependentes e estão em equilíbrio. O deslocamento desse equilíbrio num determinado sentido vai depender de relações fonte (orgânica ou mineral do solo)-dreno(intensidade de extração da planta). Esses autores afirmam que em solos tropicais o fósforo orgânico freqüentemente está acima do 40 % do P total e por isso têm se encontrado correlações significativas entre C orgânico e P orgânico.

Nas plantas o fósforo forma parte de diversos compostos orgânicos que participam em inúmeros processos metabólicos ou constituem elementos estruturais de tecidos e

órgãos do vegetal. Dentre os compostos orgânicos fosforados celulares se destacam os ácidos nucleicos, os fosfolipídeos, os nucleotídeos livres e os ésteres fosfatados (Marschner, 1995).

Segundo Araújo (2000) o baixo suprimento de P diminui o número de folhas e limita a expansão foliar. Além da diminuição na superfície de interceptação da energia radiante, a deficiência desse elemento pode afetar a fotossíntese via componentes estomáticos e não estomáticos. Esse autor refere que nas etapas de crescimento ativo em algumas culturas, o P foliar é mobilizado em quantidades significativas para os órgãos reprodutivos.

2.3. A matéria orgânica do solo.

2.3. 1. Componentes da matéria orgânica do solo.

Para Stevenson & Cole (1999) os constituintes orgânicos do solo podem ser reunidos em dois grandes grupos:

- Não humificados
- Substâncias húmicas

Os componentes não humificados incluem aqueles compostos orgânicos de estrutura química definida (tais como lipídeos, carboidratos, nucleotídeos, aminoácidos, etc), resíduos vegetais e animais parcialmente decompostos e a biomassa microbiana.

As substâncias húmicas, por sua vez, são convencionalmente subdivididas em ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e huminas em função da solubilidade (em qualquer meio, em meio básico e insolúveis respectivamente).

A matéria orgânica do solo (MOS) representa o maior reservatório de carbono na superfície terrestre. Os fatores principais que afetam os níveis de MOS segundo Haigh

(2000) são: tipo de mineral original, tempo, clima, topografia, vegetação e a atividade humana no uso das terras.

As substâncias húmicas, pelas características estruturais que apresentam, representam o compartimento mais estável dentre todos os componentes da MOS. Desempenham um importante papel na qualidade dos sistemas agrícolas, pois interferem na disponibilidade de elementos nutrientes para as plantas, são fonte de energia para os microrganismos do solo, influenciam de maneira decisiva as condições físicas, químicas e físico-químicas do solo e exercem efeitos diretos sobre o desenvolvimento das culturas (Stevenson & Cole, 1999).

A relação entre estrutura e funções das substâncias húmicas é objeto de crescente interesse nas pesquisas. Por isso hoje são utilizados os mais modernos e poderosos métodos de análise química estrutural para tentar melhor compreender suas propriedades (Ruiz, 1996; Canellas, 1999; Landgraf, 1999; Chukov, 2000).

2.3.2. Relação entre matéria orgânica e microbiota do solo.

De acordo com a opinião de Mielniczuk (1999) está suficientemente comprovado pelas pesquisas, que a matéria orgânica do solo interfere nas características químicas, físicas e biológicas do solo.

Os componentes da comunidade microbiana do solo são agrupados por Brandão (1992) em cinco grandes espécies: bactérias (com a maior abundância e diversidade entre as espécies, com populações geralmente entre 10^8 e 10^9 organismos por grama de solo), fungos (entre 10^4 e 10^6), algas (entre 10^3 e 10^4), protozoários (10^4 e 10^5) e vírus.

Em relação às funções da biomassa microbiana, Gama-Rodrigues (1999) destacou que de acordo com as condições edafoclimáticas e da qualidade da serapilheira, a

microbiota do solo pode exercer função catalisadora, de fonte e/ou reserva de nutrientes, e quando a ciclagem acontece rapidamente pode também fornecer fluxos de relevante importância na nutrição das plantas.

Trabalhando com dois tipos de solos (um argiloso e outro arenoso) e diferentes doses de matéria orgânica compostada, Pera et al. (1983) avaliaram as populações de microrganismos da rizosfera de plantas de sorgo, e encontraram que acréscimos nas doses de composto afetaram positivamente o crescimento de microrganismos heterotróficos. Os fungos tiveram um considerável crescimento em ambos os tipos de solos. A dose de composto também estimulou o desenvolvimento das bactérias aeróbicas totais, atingindo o máximo 45 dias após a incorporação. No solo arenoso a atividade dos microrganismos celulíticos acompanhou os aumentos das doses de matéria orgânica, mas isto não foi evidente no solo argiloso, provavelmente pela inativação parcial dos resíduos de celulose absorvidos nas partículas de argila.

Costantini & Segat (1994) avaliaram os níveis de carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (CBM e NBM respectivamente) em quatro áreas de cultivos comerciais do Rio de Janeiro, com diversos manejos durante duas estações diferentes (chuvosa e seca). Os resultados obtidos por esses pesquisadores indicaram que tanto CBM quanto NBM apresentaram variações significativas entre épocas, e em profundidade somente no caso de NBM. Por um outro lado encontraram correlações estatisticamente significativas entre CBM e C orgânico total, e entre NBM e N total.

O conteúdo de fósforo da biomassa microbiana de um solo cultivado com *Brachiaria decumbens* foi avaliado por Guerra et al. (1995), trabalhando com duas fontes de fósforo e épocas de aplicação. Esses autores detectaram que o superfosfato-triplo

induziu conteúdos de P microbiano significativamente maiores independentemente da época, aproximadamente cinco anos após a aplicação. Sugerem, além, que a relação C/P da biomassa microbiana poderia tornar-se um índice auxiliar útil para o entendimento das transformações do P no solo.

Costantini et al. (1995) estudaram os efeitos de três diferentes sistemas de manejos de um solo aplicados por mais de cinco anos consecutivos, sobre os componentes do ciclo do carbono. Detectaram diferenças significativas no carbono da biomassa microbiana (menor no sistema de plantio convencional), mas não aconteceu assim com o conteúdo de carbono orgânico total. Por isso concluíram que o carbono da biomassa microbiana é mais sensível que o carbono orgânico total para refletir mudanças na matéria orgânica como consequência de diferentes sistemas de manejos.

Quando avaliado o tempo de renovação do CBM em cinco tipos de solos de diferente textura, Sakamoto & Hodono (2000) encontraram que este indicador esteve diretamente correlacionado com a porcentagem de argila ($R=0,919$), a CTC ($R=0,921$) e o conteúdo de macroagregados ($R=0,907$), sendo que os menores valores (aproximadamente 45 dias) corresponderam aos solos arenosos.

Em experimento de mais de 20 anos de duração, Fliessbach & Mader (2000) comprovaram que tanto CBM como NBM, o carbono da fração leve e o N do solo, foram maiores no sistema de manejo orgânico quando comparados com o sistema convencional.

Rao & Pathak (1996) avaliaram os efeitos da incorporação de matéria orgânica sobre a evolução de CO_2 e atividade biológica em solos afetados por salinidade e alcalinidade. Encontraram estimulação da evolução de dióxido de carbono e da atividade da desidrogenase e da urease em solos com pH acima de 10, atingindo níveis semelhantes a

solos de pH 8. No caso dos solos extremamente salinos, esse resultado somente foi obtido após lavagem, para reduzir a condutividade em pelo menos 50 %.

Os efeitos da calagem sobre a atividade da microbiota e as transformações do nitrogênio foram examinados por Neale et al. (1997) em quatro solos orgânicos muito ácidos. A calagem até pH próximo de 6,5 pelo menos duplicou a respiração do solo e a biomassa microbiana nos primeiros quatro dias, mas apenas a biomassa manteve valores superiores a longo prazo. Como resultado da calagem a nitrificação aumentou rapidamente em todos os solos.

Testando procedimentos para recuperar áreas de mineração superficiais de carvão, Filcheva et al. (2000) comprovaram que após 25 anos de plantio, a serapilheira proveniente de árvores de *Robinia pseudoacacia* L. teve uma transformação mais rápida do que a originada por *Pinus nigra* Arn., e produziu maior quantidade de substâncias orgânicas móveis, que conseguiram se difundir melhor através do perfil mineral. Também as ditas áreas apresentaram maior diversidade na microflora (na camada de 0-10 cm) com predomínio de *Bacillus mycoides*.

Para Leirós et al. (2000) o conceito de desenvolvimento sustentável sugere que a qualidade do solo possa ser medida, se baseando nas mais sensíveis propriedades dos ecossistemas naturais. Esses autores comprovaram, em regiões temperadas úmidas de Europa, correlações entre os indicadores bioquímicos e químicos do solo com o tamanho e atividade da população microbiana, o conteúdo de matéria orgânica e de elementos nutrientes disponíveis.

Os conteúdos de matéria orgânica, nitrogênio disponível e C, N e P da biomassa microbiana foram avaliados por Funakawa et al. (1997) para comparar solos de floresta

nativa, em pousio e com cultivo contínuo. Na camada de 0-10 cm, os solos submetidos a cultivo tradicional permanentemente, tiveram conteúdos inferiores de matéria orgânica, N disponível e C, N e P da biomassa microbiana, quando comparados com aqueles de pousio prolongado por mais de 10 anos e de floresta nativa.

Mais recentemente, Yakovchenko et al. (1998) comprovaram que os acréscimos em matéria orgânica resultaram em maior respiração do solo e conteúdos mais altos de C e N na biomassa microbiana, sendo sugeridos como indicadores da qualidade do solo.

Segundo Maire et al. (1999), descritores bioquímicos da qualidade do solo como o conteúdo de ATP (índice da biomassa do solo) e atividade da urease e da fosfatase alcalina, tiveram variações associadas diretamente com a quantidade de complexo argila-substâncias húmicas em solos de montanha dedicados à pastagem.

Trasar-Cepeda et al. (2000) e Leirós et al. (2000) avaliaram propriedades bioquímicas em solos ácidos em uma região temperada úmida da Europa, e concluíram que dentre os cinco fatores determinantes na caracterização bioquímica, física e química dos solos estudados, os três mais importantes foram a atividade microbiana, a acumulação de matéria orgânica e a mineralização dessa matéria orgânica.

As diferenças na natureza do material depositado sobre a superfície do solo e nas condições edafoclimáticas do local (clima, diversidade da microbiota, etc) podem, a longo prazo, ser as responsáveis pelas variações em algumas propriedades das substâncias húmicas, de acordo com Lorenz et al. (2000).

Segundo Haigh (2000) a maioria dos solos renovam, ou pelo menos melhoram a qualidade quando tratados apropriadamente, mas com tratamento inadequado sofrem degradação progressiva, perdem fertilidade e estrutura. Também indica esse autor que a

evolução natural dos solos está condicionadas por cinco grandes fatores (processos biológicos, condições geológicas, processos geomorfológicos e hidrológicos, processos climáticos e microclimáticos, e o tempo), mas esta dinâmica tem sido alterada ao longo de muitas décadas pela atividade humana no uso da terra.

2.4. Biofertilizantes.

O uso freqüente e excessivo de produtos químicos na agricultura convencional tem tido efeitos ambientais adversos, alterando o balanço ecológico dos solos e transformando as plantas em mais susceptíveis as doenças e pragas (Higa & Wididana, 1991). Sobre esse assunto Sinha (1997) concluiu que o emprego intensivo de agroquímicos tinha conseguido, nas décadas passadas, altas produções de alimentos, mas também destruiu os ecossistemas agrícolas.

Na literatura científica o termo “biofertilizante” aparece relacionado com o uso de microorganismos (bactérias e fungos) tanto em meios de cultivos artificiais como em sistemas naturais onde eles se encontram e reproduzem tais como fermentados aeróbios ou anaeróbios, produtos da compostagem (especialmente o vermicomposto) de materiais orgânicos, entre outros, com o objetivo de diminuir os insumos de adubos minerais, minimizar os efeitos degenerativos das práticas agrícolas e tentar alternativas em consonância com a preservação dos ecossistemas destinados à agricultura.

As pesquisas sobre aplicação de microrganismos na atividade agrícola e na proteção do meio ambiente são crescentes. O interesse continua dirigido à procura dos microrganismos mais eficientes no fornecimento e aproveitamento de elementos nutrientes, tratamento de águas residuais, remoção de metais pesados, e o uso como biopesticidas (Sorlini, 1996).

Bactérias relacionadas com o ciclo do nitrogênio no solo têm sido muito estudadas em diversas culturas e tipos de solo, tendo em conta as grandes demandas deste elemento para uma adequada nutrição das plantas.

Hernández et al. (1995) utilizaram inóculos de *Pseudomonadaceae* em sementes de milho e reportaram resultados superiores na altura das plantas, porcentagem de germinação, massa fresca e rendimento em condições de campo, com uma redução de 25 a 50 % na aplicação de adubo nitrogenado.

Plantas de *Brassica juncea* L. inoculadas com *Azospirillum* tiveram crescimento e rendimento maiores que outras não inoculadas, e esses efeitos foram ainda estimulados por pequenas doses de nitrogênio mineral em quantidades inferiores à dose recomendada (Chauhan et al., 1995 a). A inoculação combinada de sementes deste tipo de planta com *Azospirillum* e *Azotobacter*, permitiu manter os efeitos benéficos tanto no verão quanto no inverno (Chauhan et al., 1995 b).

Durante dois anos de estudo, Maheshwari et al. (1998), reportaram que a maior produção de massa seca e rendimento de óleos essenciais em *Cymbopogon martini* (var. motia) foi obtida na época chuvosa com aplicação de 2 kg ha⁻¹ de um inóculo de *Azotobacter* junto com pequenas quantidades de N e P (20 kg ha⁻¹).

Também se tem praticado a aplicação foliar de bactérias fixadoras de nitrogênio em algumas culturas. Sudhakar et al. (2000) aplicaram *Azotobacter*, *Azospirillum* e *Beijerinckia* nos correspondentes meios de cultivo específicos, incluindo a metade da dose de nitrogênio recomendada, sobre plantas de *Morus spp.*, encontraram a melhor resposta com *Azotobacter*, ultrapassando à aplicação da dose completa do elemento na produção de

folhas. Todos os biofertilizantes aplicados produziram acréscimo no conteúdo de N proteico foliar.

Kabli et al. (1997) testaram nove espécies de cianobactérias isoladas de solos agrícolas para utilizá-las como biofertilizantes. Esses autores comprovaram diferentes potencialidades entre as espécies para fixar N_2 atmosférico e reportaram que tanto *Nostoc commune* quanto *Anabaena cylindrica* poderiam transformar quantidades de nitrogênio suficiente para garantir o crescimento vegetativo de plantas de trigo.

Por um outro lado Inderjit & Dakshini (1997) reportaram que quando inoculados com quantidades crescentes de cianobactérias, alguns solos sofrem alterações em características como pH, condutividade elétrica, matéria orgânica, N orgânico, fenóis totais e CTC, sendo que no caso dos compostos fenólicos podem se atingir níveis que inibam o desenvolvimento do sistema radicular de plantas como o arroz.

Em feijão comum Teixeira et al. (1999) demonstraram que altos níveis de P nas sementes dão origem a plantas com menor dependência desse no solo, que podem aumentar a nodulação e com isto a fixação biológica do N.

2.4.1. Os fungos como biofertilizantes.

A utilização de inóculos de fungos formadores de micorriza (tanto endomicorrizas como ectomicorrizas) para atuarem como biofertilizantes tem sido um procedimento muito empregado nas tecnologias que visam melhor aproveitar os recursos naturais do sistema solo (especialmente em relação ao elemento fósforo), estimular o desenvolvimento das culturas e diminuir o consumo de agrotóxicos.

Siqueira (1996) conseguiu reunir os principais avanços nas pesquisas relativas ao uso agrícola das micorrizas no Brasil, mas diversos aspectos dessa simbiose continuam sendo objeto de estudo.

Os efeitos de altas concentrações de CO₂ na atmosfera e conteúdos elevados de metais pesados no solo, constituem preocupações atuais nos estudos de impacto ambiental.

Jongen et al. (1996) comprovaram que concentrações de dióxido de carbono duas vezes maiores que as normais não afetaram a porcentagem de infecção micorrízica em *Trifolium repens*, mas provocou aumento no comprimento das raízes micorrizadas.

Michelsen et al. (1998), em sistemas florestais árticos, encontraram que a abundância de ¹⁵N nas plantas, está correlacionada intimamente com a presença e tipo de fungo ectomicorrízico que coloniza as raízes, e detectaram também que nesses locais o conteúdo de N orgânico solúvel é várias vezes superior ao N inorgânico.

Martins et al. (1999) comprovaram que plantas de *Castanea sativa* Mill, colonizadas com ectomicorrizas (*Pisolithus tinctorius*), apresentam raízes que possuem menor conteúdo de ortofosfatos, quando comparadas com plantas não colonizadas, o que sugere que os polifosfatos do fungo sejam a principal fonte de fósforo na simbiose.

Os trabalhos de Espindola et al. (1998) e Souza et al. (1999) demonstraram que pré-cultivos com adubos verdes modificam o potencial de inóculos de fungos micorrízicos arbusculares, o que deve se ter em conta tanto na própria produção de inóculos quanto na aplicação prática deles como biofertilizantes.

2.4.2. Matéria orgânica do solo e micorrizas.

Johnson (1998) verificou que a micotrofia era favorecida por aumentos no conteúdo de matéria orgânica no solo.

Em pastagens, Martín et al. (1999) detectaram que ao acrescentar matéria orgânica, os efeitos benéficos dos fungos micorrízicos nativos de áreas de cerrado, sobre o crescimento das plantas, foram mais expressivos.

Frações mais leves de matéria orgânica, contendo compostos fenólicos (ácidos p-cumárico e p-hidroxibenzoico) em concentrações de até 0,25 mmol.L⁻¹, estimularam a colonização micorrízica na cevada e no sorgo (Fries et al., 1997)

Na composição de substratos para obtenção de mudas, Sainz et al. (1998) observaram que combinando vermicomposto e solo (entre 10 e 50 % do vermicomposto) com inoculação de *Acaulospora* sp., aumentos consideráveis na produção de massa seca no pepino podem ser obtidos.

Ainda é insuficiente a informação acumulada sobre a relação matéria orgânica do solo-micorrizas, e muitas pesquisas precisam ser executadas neste sentido.

2.4.3 Distribuição das populações de fungos micorrízicos.

As avaliações feitas em diversas pesquisas parecem indicar que a diversidade das espécies de fungos micorrízicos está vinculada com a diversidade de hospedeiros existentes em cada ecossistema, a fertilidade do solo e com algumas condições ambientais.

Cuenca & Meneses (1996) verificaram somente a presença de *Acaulospora* como predominante em áreas dedicadas por muito tempo ao cultivo do cacao na Venezuela. Nas áreas estudadas por esses autores, *Scutellospora* não foi nunca encontrada. Também indicaram que a diversidade das populações foi correlacionada negativamente com a disponibilidade de fósforo, mas o índice Shannon-Wiener correlacionou positivamente com a matéria orgânica presente nas áreas avaliadas.

Em ecossistemas florestais da Sibéria, Michelsen et al. (1998) não detectaram colonização micorrízica arbuscular, sendo as ectomicorrizas as predominantes, e atribuíram esse fenômeno à deficiência de nutrientes desses solos. Com uso de ^{15}N comprovaram que o nitrogênio orgânico pode ser uma fonte importante do elemento para ectomicorrizas.

Provavelmente, o estudo da dinâmica da distribuição das populações nativas de fungos micorrízicos, possa oferecer um novo indicador do impacto de diferentes sistemas de cultivo sobre o ambiente.

2.4.4. Bioquímica e fisiologia da simbiose micorrizica.

São relativamente abundantes os trabalhos desenvolvidos sobre os efeitos benéficos da inoculação de fungos micorrízicos (principalmente formadores de arbúsculos) no crescimento e no desenvolvimento da planta hospedeira. Nos anos recentes, os estudos têm orientado a atenção para os mecanismos que justificam tais efeitos.

Joner & Jakobsen (1995) concluíram que a micorrização influencia favoravelmente a exsudação de fosfatase ácida pelas raízes. Foi comprovado (Syvertsen & Graham, 1999) com plantas de citrus que a adubação pesada com fósforo reduz a colonização, o que se traduz na redução do conteúdo de amido nas raízes fibrosas.

Dentro das células corticais de raízes de *Medicago truncatula*, nos espaços ocupados pelos arbúsculos formados por *Glomus intraradices*, Salzer et al. (1999) detectaram acúmulo de peróxido de hidrogênio.

Jansa et al. (1999), através de eletroforese em gel de policrilamida, demonstraram que a maioria dos fungos micorrízicos arbusculares (MA) apresentam um padrão de ácidos graxos significativamente diferente dos outros fungos saprofíticos do solo. Em leguminosas

Xie et al. (1999) reportaram que a micorrização induz duas isoformas de endoquitinases não existentes nas raízes das plantas não inoculadas.

No milho, Aguilera et al. (1998) detectaram efeito positivo da micorriza (*Glomus fasciculatum*) sobre a taxa de fotossíntese líquida, que foi mais evidente em cultivares menos manipulados geneticamente.

Pfeffer et al. (1999) comprovaram, empregando ressonância magnética nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C) que tanto a glicose como a frutose são absorvidas pelo fungo (*Glomus intraradices*) dentro da raiz, transformadas em lipídios e polissacarídeos, e depois transportados até os micélios extraradiculares.

A inoculação da cevada com *Glomus mosseae* provocou aumento no conteúdo de fructosanos nas raízes e modificou o padrão geral de distribuição de carboidratos na planta (Muller et al., 1999).

Para o estudo do efeito da micorriza em ecossistemas, Rillig & Allen (1999) propoem avaliar a biomassa das hifas ou a produção de glomulina, como indicadores mais eficientes do que a tradicional porcentagem de infecção das raízes.

Em batatas micorrizadas com *Glomus intraradices*, Louche-Tassadier et al. (1999) reportaram aumentos nos conteúdos de clorofilas e carotenos, bem como, no rendimento quântico (relação entre intensidade de luz absorvida e quantidade de carbono fixado). Um efeito semelhante no conteúdo de clorofilas foi reportado por Martins-Laurent et al. (1999) em *Acacia mangium* inoculadas.

Segundo Schellenbaum et al. (1999), plantas de tabaco inoculadas com *Glomus mosseae*, reduziram o conteúdo de hexoses nas folhas e aumentaram os de dissacarídeos nas raízes.

Em relação ao balanço do carbono, resulta interessante a evidência experimental de que plantas diferentes, com uma rede comum de ectomicorrizas, transferem carbono de uma planta para outra (Robinson & Fitter, 1999).

Como se aprecia, ainda muitas pesquisas serão necessárias para conjugar todas as evidências parciais acumuladas em uma explicação integrada e coerente, que inclua até, fatores de indução de ativação de genes, tanto no fungo quanto no hospedeiro.

2.4.5 Micorriza e meio ambiente

Sylvertsen & Graham (1999) aplicaram elevadas concentrações atmosféricas de CO₂ em plantas de citrus e observaram que quando inoculadas com *Glomus intraradices*, as plantas tiveram maior crescimento e aumentaram a taxa de assimilação líquida do CO₂, mesmo dispondo de altas concentrações de fósforo.

Efeito semelhante na colonização das raízes sob concentrações elevadas de CO₂ foram reportadas por Louche-Tessandier et al (1999) em plantas de batata inoculadas com fungos MA do gênero *Glomus*.

Em solos com conteúdos elevados de metais pesados, as plantas de violeta cultivadas foram expressivamente colonizadas por fungos do gênero *Glomus* e conseguiram se desenvolver segundo Hildebrant et al. (1999).

Glomus BrL induziu tolerância a metais pesados em plantas de milho, alfalfa e cevada segundo Kaldorf et al. (1999), e detectaram enriquecimento em Fe, Ni e Zn na região cortical interior da raiz que contém arbúsculos.

2.4.5. Os compostos como biofertilizantes.

A compostagem é uma prática em consonância com o reaproveitamento de resíduos orgânicos domésticos e da própria agricultura, que fornece fontes de matéria orgânica

alternativas de promissórias utilidades na recuperação de áreas degradadas e na pequena propriedade rural.

Guridi et al. (1999) detectaram e avaliaram atividade equivalente a fitohormônios estimuladores do desenvolvimento radical, tanto na fração não humificada quanto nas substâncias húmicas contidas em compostos de lixo urbano e de esterco de galinha.

O vermicomposto (ou húmus de minhoca) além de ter em média mais de 35 % de matéria orgânica, o que de fato faz dele uma fonte de grande importância na adubação orgânica, possui uma população de microrganismos e substâncias com atividade biológica, que permitem classificá-lo como biofertilizante.

Ruiz et al. (1999) avaliaram as principais características químicas e físico-químicas de cinco tipos de vermicomposto produzidos em Cuba e demonstraram as potencialidades que todos eles tinham para serem usados como melhoradores da fertilidade do solo, embora encontraram algumas diferenças nos aspectos estudados, em função do substrato e tipo de minhoca.

Landgraf et al. (1999) não detectaram diferenças estruturais significativas nos ácidos húmicos extraídos de vermicomposto de esterco bovino, para diferentes tempos de compostagem.

Huelva et al (1999) e Echenagusía et al. (1999) detectaram efeitos semelhantes a fitohormônios quando aplicaram um extrato de vermicomposto sobre mudas de tomate e na micropropagação de banana.

Apenas pelos conteúdos de elementos minerais reportados, ou pela contribuição nas propriedades físicas do solo, não seriam explicáveis os efeitos benéficos que os compostos (ou vermicompostos) produzem no desenvolvimento das culturas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A seguir são descritas as condições e as metodologias empregadas na execução dos oito experimentos delineados, visando acumular a informação científica necessária para cumprir os objetivos propostos.

3.1 Distribuição do fósforo foliar em plantas adultas submetidas a diferentes condições de nutrição fosfática.

3.1. a.-Experimento I. Seis níveis de fósforo a partir de adubo mineral.

Nesse experimento foram empregadas plantas de café (*Coffea arabica* L., var. Caturra) com cinco anos de idade, provenientes de uma plantação onde se aplicaram 6 níveis de adubação para o elemento fósforo (P) no momento do estabelecimento, sobre um Latossolo da área experimental do Instituto Nacional de Ciências Agrícolas (INCA) na província La Habana, Cuba, situado a 87°7' longitude oeste, 23° latitude norte e 138 m de altitude sobre o nível do mar . Os indicadores de fertilidade original aparecem na Tabela 13 (Apêndices).

As doses de fósforo aplicadas (usando-se superfosfato simples com 20 % de P_2O_5) foram equivalentes a: 0; 50; 100; 150; 200 e 250 kg ha⁻¹ de P_2O_5 . Tanto o nitrogênio (nitrato de amônio) como o potássio (cloreto de potássio) foram utilizados na adubação de

base em dose equivalente a 450 kg ha^{-1} (de N e K_2O respectivamente). No caso do nitrogênio a adubação foi repetida na mesma dose anualmente, dividida em duas aplicações. O fósforo e o potássio foram aplicados numa única vez, no momento do transplante das mudas. O Quadro 1 contém um resumo dos tratamentos descritos.

Quadro 1 . Descrição resumida dos tratamentos.

Tratamento Nº	kg ha^{-1}		
	P_2O_5	N	K_2O
1	0	450	450
2	50	450	450
3	100	450	450
4	150	450	450
5	200	450	450
6	250	450	450

Cada um dos tratamentos foi replicado em quatro parcelas, distribuídas segundo blocos ao acaso, contendo 28 plantas, utilizando-se uma distância de plantio de $2 \times 1 \text{ m}$ (densidade equivalente a 5000 plantas por hectare). As plantas situadas no centro das parcelas foram selecionadas para as amostragens.

Nas plantas selecionadas, durante dois anos consecutivos (o quinto e o sexto anos após estabelecimento da plantação), foram realizadas amostragens foliares nas etapas de floração (fevereiro-março) e de frutificação (maio-junho). As folhas empregadas nessas amostragens foram escolhidas entre o terceiro e o quinto par dos ramos produtivos, nos

terços baixo, médio e alto do dossel, assim como nas quatro direções cardeais, para obter-se três amostras compostas representativas de cada parcela. As coletas das folhas foram realizadas sempre entre as oito e as nove horas da manhã. As folhas foram submetidas imediatamente às análises laboratoriais.

A extração, separação e quantificação do fósforo contido nas formas de fosfato inorgânico livre (Pi), fósforo compondo nucleotídeos livres (Pnl), fósforo esterificando monossacarídeos (Phf) e na forma de fitina (Pfit), se executaram no material foliar fresco excluindo a nervura central da folha, através do procedimento descrito por Pochinok (1976), cujas etapas essenciais são as seguintes:

- Inativação dos sistemas enzimáticos no material vegetal fresco;
- Maceração com solução de ácido acético a 1 %;
- Separação do extrato por centrifugação (5000 rpm);
- Adsorção dos nucleotídeos livres sobre carvão ativado;
- Precipitação do Pi e do Pfit, e separação do Phf sobrenadante através de centrifugação (5000 rpm);
- Hidrólise ácida dos grupamentos fosfatos das frações orgânicas isoladas;
- Determinação fotométrica de Pi antes e depois da hidrólise ácida;

A avaliação fotométrica de Pi utilizada foi a baseada no complexo fosfo-molibdico, usando cloreto de estanho (II) como redutor. A absorvância lida a 660 nm em um espectrofotocolorímetro, foi comparada com uma curva de calibração obtida com padrões de Pi na faixa de concentrações esperada.

Em outra parte do material foliar fresco coletado, se determinou a porcentagem de massa seca, por dessecação em estufa com circulação de ar a 378 K até massa constante.

Tanto as análises do conteúdo de fósforo nas diferentes frações estudadas como da porcentagem de massa seca nas amostras representativas de cada parcela, foram realizadas com três repetições de laboratório.

Os dados obtidos para as doses de fósforo e etapas fisiológicas de cada ano se processaram estatisticamente e quando apareceram diferenças entre tratamentos, foi aplicado o teste Tukey de comparação de médias para $p < 0,05$.

3.1.b. Experimento II. Combinação de adubo mineral e matéria orgânica.

Nesse estudo foi utilizada uma plantação de *Coffea arabica* L., var. Caturra com quatro anos de estabelecimento, numa área adjacente ao experimento anterior com o mesmo tipo de solo e onde se aplicaram duas fontes de matéria orgânica (esterco de gado e torta de filtro, EG e TF respectivamente) e adubação mineral (N, P e K), obtendo-se cinco condições nutricionais (tratamentos) diferentes, como se ilustra no Quadro 2.

Nos casos das fontes de matéria orgânica (40 tn ha^{-1}) e do adubo fosfático (50 kg ha^{-1} de P_2O_5 como superfosfato simples) a aplicação foi realizada só uma vez (no momento do transplante). Anualmente, a partir do transplante, foram aplicados 100 kg ha^{-1} de N (nitrato de amônio) e K_2O (cloreto de potássio).

As porcentagens totais de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e potássio do EG e da TF aparecem na Tabela 14 (Apêndices).

Quadro 2 . Composição dos tratamentos. EG = esterco de gado, TF= torta de filtro, (+) = aplicação de adubação mineral , (-) = sem aplicação de adubação mineral

Tratamento Nº	Matéria Orgânica	Adubação Mineral
1	EG	+
2	TF	+
3	TF	-
4	EG	-
5	-	+

Cada um dos tratamentos indicados se distribuíram, em blocos ao acaso, com quatro parcelas compostas por 28 plantas (densidade equivalente de 5000 plantas por hectare). As plantas centrais das parcelas foram selecionadas para as amostragens executadas durante as etapas de floração (fevereiro-março) e início da frutificação (abril-maio), no quarto ano após o estabelecimento. Os mesmos critérios e procedimentos descritos no experimento anterior se empregaram aqui para coletar amostras representativas de cada parcela, avaliar o fósforo foliar contido nas frações citadas e determinar a porcentagem de massa seca. O conteúdo de fósforo foliar total foi determinado após digestão nítrico-perclórica, simultaneamente em todas as amostras.

Os dados obtidos nas avaliações dos indicadores estudados para cada etapa fisiológica de acordo com os tratamentos foram submetidos a análise estatística, e quando

apareceram diferenças significativas se aplicou o teste Tukey de comparação de médias para $p < 0,05$.

3.2 Efeitos de diferentes fontes de matéria orgânica e micorriza em mudas de café.

3.2.1.- Experimento III. Influência de quatro fontes de matéria orgânica sobre indicadores do crescimento e conteúdo de pigmentos fotossintéticos foliares.

Sementes pré-germinadas de *Coffea arabica* L., var Caturra, foram empregadas para obter-se mudas de café em quatro substratos (tratamentos) constituídos por uma mistura de solo: matéria orgânica na relação 5 : 1 (volume:volume). Cada tratamento foi utilizado para encher 120 sacos de polietileno pesando aproximadamente 1 kg cada um, subdivididos em conjuntos de 30 para constituir quatro repetições que se distribuíram segundo delineamento de blocos ao acaso sob sombra artificial controlada com tecido sintético branco (65 % da luminosidade natural). Uma semente foi colocada em cada saco.

A partir dos 135 dias após a emissão (DAE) do primeiro par de folhas verdadeiras foram realizadas as avaliações da altura e da área foliar das mudas (aos 135, 150, 163 e 205 DAE), da massa seca foliar específica (aos 205 DAE) e do conteúdo de pigmentos verdes foliares (aos 205 DAE).

A área foliar foi calculada a partir das medidas de comprimento e largura média das folhas, usando a equação proposta por Soto (1994), para esta variedade, em fase de viveiro.

A massa seca foliar foi determinada por dessecação em estufa de circulação de ar a 378 K até massa constante.

Os pigmentos verdes foliares foram extraídos macerando-se folhas do terço médio do dossel com solução de acetona a 80 % e lendo-se a absorvância (em espectrofotômetro) nos comprimentos de onda de máxima absorção das clorofilas "a" (cl a) e "b" (cl b) e os cálculos dos conteúdos respectivos das ambas clorofilas executados de acordo com Lichtenthaler (1987).

As fontes de matéria orgânica ensaiadas foram: vermicomposto (vc), composto (co), esterco de gado (eg) e torta de filtro (tf). Estas fontes foram previamente submetidas a uma caracterização química parcial, cujos resultados aparecem resumidos na Tabela 15 (Apêndices).

3.2.2 Efeitos da combinação de doses de matéria orgânica e micorriza em mudas de café.

3.2.2.a . Experimento IV. Duas doses de vermicomposto e *Glomus manihotis*

Para a execução deste estudo se utilizou o vermicomposto, as sementes pré-germinadas e o solo do experimento anterior, mas preparando o substrato com duas proporções matéria orgânica-solo (1: 4 e 1: 8). Cada substrato foi subdividido, por sua vez, em duas partes, para aplicar em uma delas o inóculo misto de *Glomus manihotis* (hoje reconhecido como uma variante do *Glomus clarum*) produzido pelo INCA. As quatro combinações obtidas se acrescentaram outros dois tratamentos que consistiram em o solo

com adubação mineral completa (fertilizante com 5,2 % de N, 12 % de P_2O_5 e 6 % de K_2O) e o solo sozinho. O Quadro 3 contém o esquema dos seis tratamentos aplicados.

Uma semente pré-germinada foi colocada em cada um dos 120 sacos de polietileno, contendo aproximadamente 1 kg dos substratos (tratamentos) e depois subdivididos em grupos de 30 para se constituírem em 4 repetições, distribuídas segundo delineamento de blocos ao acaso. Antes de colocar a semente foram incorporados 5 g de inóculo ativo (entre 20 e 30 esporos por grama) nos tratamentos com inoculação positiva e 5 g de inóculo inativo (com autoclave) nos restantes.

As mudas obtidas foram mantidas sob sombra controlada de 65 % da luminosidade natural, utilizando-se tecido sintético branco como cobertura da área. A irrigação e demais atenções culturais foram iguais para todos os tratamentos.

Quadro 3. Representação esquemática dos tratamentos. vc = vermicomposto;
1: 4 e 1 : 8 = proporções fonte de matéria orgânica : solo (v/v);
+ FMA = inoculação com fungo micorrízico;
a.m.c. = adubação mineral completa (40 g por planta)

Tratamento Nº	Composição
1	vc:solo 1 : 4 + FMA
2	vc:solo 1 : 4
3	vc:solo 1 : 8 + FMA
4	vc:solo 1 : 8
5	a.m.c.
6	solo

Durante momentos específicos do desenvolvimento das mudas, tendo como referência os dias após emissão (DAE) do primeiro par de folhas verdadeiras, se fizeram as seguintes avaliações em todos os tratamentos:

- Fósforo disponível nos substratos (extraído com solução de ácido sulfúrico de concentração molar equivalente $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) aos 180 e 240 DAE;
- Carbono prontamente oxidável (método volumétrico com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$) nos substratos aos 180 e 240 DAE;
- Conteúdos de clorofila “a”, clorofila “b” e carotenóides totais foliares (extração com acetona a 80 %, leituras de absorbância nos máximos de absorção de cada um destes pigmentos e cálculos segundo Lichtenthaler, 1987) aos 180, 210 e 240 DAE;
- Carboidratos totais foliares (reação fenol-sulfúrico) aos 180 e 240 DAE e redutores (antrona-sulfúrico) aos 240 DAE.
- Superfície (a partir da medição do comprimento e da largura média das folhas de acordo com Soto, 1994) e massa seca das folhas (dessecação em estufa com circulação de ar a 378 K até massa constante) aos 180 e 240 DAE.

Cada uma das determinações anteriores foi feita por triplicata no laboratório e o conjunto de dados obtidos submetidos a análise estatística para detectar diferenças entre tratamento. A comparação entre médias se executou aplicando o teste de comparação de Tukey para $p < 0,05$.

3.2.2.b . Experimento V. Duas doses de vermicomposto e *Glomus clarum*.

Nesse experimento foram utilizados: um vermicomposto produzido nas áreas do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) da UFRRJ/EMBRAPA/PESAGRO (Fazendinha) a partir de esterco de gado misturado com 15 % (v:v) de resíduos de leguminosas (feijão e soja), sementes pré-germinadas de *Coffea arabica* L., var. Catuaí vermelho, inóculo de *Glomus clarum* do Laboratório de Micorrizas da EMBRAPA/Agrobiologia e solo proveniente de um horizonte Bt de um Nitossolo adjacente ao Departamento de Solos do Instituto de Agronomia da UFRRJ. As características previamente avaliadas do solo e do vermicomposto aparecem nas Tabelas 16 e 17 (Apêndices).

Seis tratamentos foram constituídos misturando ou não o solo com duas proporções do vermicomposto e aplicando ou não o inóculo. As proporções empregadas (volume : volume) de vermicomposto : solo foram 1 : 3 e 1 : 5. A inoculação foi aplicada com 5 gramas do inóculo misto ativo (entre 15 e 25 esporos por g) em cada um dos sacos de polietileno (com 1 kg de substrato aproximadamente), antes da implantação das sementes pré-germinadas. Nos demais tratamentos foi incluída a mesma massa de inóculo inativo (com autoclave).

No Quadro 4 se representa esquematicamente a composição dos tratamentos. Três repetições (de 20 sacos, cada um com uma plântula) desses tratamentos foram distribuídos segundo blocos ao acaso e as mudas obtidas se mantiveram em casa de vegetação durante 180 dias a partir da emissão do primeiro par de folhas verdadeiras.

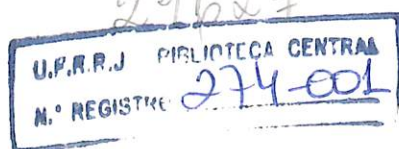
Quadro 4. Representação esquemática dos tratamentos.vc = vermicomposto; s = solo ; +FMA = inoculação com *Glomus clarum*

TRATAMENTO Nº	Composição
1	vc : s 1 : 3 +FMA
2	vc : s 1 : 3
3	vc : s 1 : 5 +FMA
4	vc : s 1 : 5
5	s +FMA
6	s

Após este tempo cinco mudas por repetição foram submetidas às seguintes avaliações:

- Superfície foliar (processamento das imagens das folhas utilizando o programa SIARC 3.0);
- Determinação dos conteúdos foliares de clorofilas “a” e “b” (cl a e cl b respectivamente) e carotenóides totais (segundo Lichtenthale, 1987);
- Conteúdo de algumas formas metabolicamente ativas do fósforo foliar;
- Massa seca foliar através da dessecação em estufa a 378 K até massa constante.

Toda a informação acumulada para estes indicadores foi analisada estatisticamente, para detectar diferenças significativas entre os tratamentos e quando existiram, se compararam as médias com o teste de Tukey para $p < 0,05$.



3.2.3 Efeitos fisiológicos das substâncias húmicas sobre mudas de café.

Para melhor interpretar os resultados obtidos nos experimentos descritos anteriormente, foi imprescindível executar um conjunto de estudos de laboratório com o objetivo de detectar e avaliar possíveis efeitos diretos dos componentes principais das fontes de matéria orgânica, sobre o desenvolvimento das mudas de café.

Antes da aplicação desses estudos às mudas ou plântulas de café, os procedimentos foram testados com plântulas de milho, pois na literatura consultada essa cultura tem sido uma das usada com bastante frequência e não foi encontrada nenhuma referência para plantas perenes em fase de viveiro. Além disso, os ensaios com o milho, pela sua rápida germinação, permitiriam economizar tempo e recursos, no processo de ajuste de condições experimentais tais como concentrações, temperaturas, tempos, etc.

3.2.3.a. Experimento VI. Influência da fração humificada (ácidos húmicos) contida no vermicomposto sobre o crescimento do sistema radicular.

Os ácidos húmicos (AH) contidos no vermicomposto foram extraídos e isolados aplicando o procedimento modificado por Santos (1984), cujas etapas principais consistem em:

- Extração com solução de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (sob atmosfera de N_2) em proporção 1:10 (m:v) de vermicomposto: solução extratora.

-Isolamento (precipitação e posterior centrifugação a 5 000 rpm) dos AH acidificando o meio até pH 1,5 pela adição de HCl 6 mol L^{-1} .

-Purificação dos AH por redissolução e reprecitação por duas vezes, lavagem com solução diluída da mistura HF-HCl e água desionizada (até ausência de cloretos e floretos) e diálise contra água deionizada.

-Secagem dos AH por liofilização.

O sólido finalmente purificado (AH) foi utilizado para preparar diferentes concentrações de humato (10; 60; 120 e 180 mg L^{-1}) em CaCl_2 0,02 mmol L^{-1} , que foram aplicadas sobre plântulas de milho, obtidas a partir de sementes da variedade BR106, previamente germinadas em câmara de germinação. Plântulas (10), com radículas de comprimento semelhante (aproximadamente de 3 cm), foram escolhidas para cada tratamento, com objetivo de avaliar os efeitos no desenvolvimento do sistema radicular, tendo como referência à solução de CaCl_2 .

As plântulas permaneceram durante sete dias nesses meios e com intensidade luminosa, umidade relativa e temperaturas controladas (Irradiância fotossintética = 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, umidade relativa 70 % e temperatura 301 K). Após esse tempo se avaliou a área (em cm^2) e o comprimento (em m) das raízes através de processamento de imagens com o programa SIARC 3.0.

Em função dos resultados encontrados com as plântulas de milho, foram modificadas as concentrações de humato a serem empregadas no mesmo esquema experimental para plântulas de café, mudando-se para 0; 20; 40 e 80 mg L^{-1} no denominado de “meio mínimo” para cultivo de raízes *in vitro* (Berbara & Fonseca, 1996), o qual foi usado também como referência. As demais condições experimentais foram mantidas, e as

mesmas avaliações foram feitas após sete dias de interação. Foram utilizadas plântulas obtidas em câmara de germinação, a partir sementes pré-germinadas de *Coffea arabica* L. var. Catuaí vermelho.

3.2.3.b. Experimento VII. Influência dos ácidos húmicos do vermicomposto sobre a atividade hidrolítica de ATP em vesículas extraídas de raízes.

Outras 10 plântulas de milho (da mesma variedade e processo de obtenção descritos anteriormente) foram empregadas para extração de vesículas da membrana plasmática das raízes, usando centrifugação diferencial como descrito por De Michelis & Spanwich (1986), após terem permanecido em contato, durante sete dias, com uma solução contendo 40 mg L⁻¹ de humato em CaCl₂ 2 mmol L⁻¹ de pH 5,5. O tratamento controle consistiu na solução de CaCl₂ 2 mmol L⁻¹ de pH 5,5.

A atividade hidrolítica de ATP nas vesículas foi determinada avaliando colorimetricamente o Pi produzido depois da interação com uma solução de ATP de 1 mmol L⁻¹ a diferentes intervalos de tempo, comparando com as mesmas vesículas inibidas a pH 6,5 usando vanadato de sódio (0,1 µmol L⁻¹), capaz de inibir 98 % da H⁺-ATPase. Esse procedimento foi repetido cinco vezes em idênticas condições.

Raízes de mudas de café com idades de 15, 30 e 70 dias após emissão (DAE) do primeiro par de folhas verdadeiras foram submetidas ao mesmo procedimento de extração de vesículas da membrana plasmática, para depois serem utilizadas na avaliação da atividade hidrolítica de ATP, reproduzindo as condições e métodos descritos para o caso das vesículas provenientes de raízes de milho.

3.2.4. Experimento VIII. Caracterização estrutural parcial do ácido húmico do vermicomposto.

A composição elementar (C,N,H,O) do AH do vermicomposto foi determinada através de análise de combustão usando um analisador elementar Perkin Elmer CHN. O oxigênio foi calculado pela diferença.

A acidez total e a quantidade de grupamento carboxílicos dos AH foram avaliadas potenciometricamente após a reação com Ba(OH)_2 e $\text{Ca(CH}_3\text{COO)}_2$ respectivamente de acordo com Stevenson (1994). Os grupamentos fenólicos se calcularam pela diferença entre esses dois indicadores. Todas essas determinações analíticas foram executadas com três repetições no Laboratório de Matéria Orgânica e Biologia do Solo do Departamento de Solos da UFRRJ.

Pastilhas compostas por 1 mg de AH e 100 mg de KBr foram utilizadas para obter o espectro infravermelho em um espectrofotômetro Perkin Elmer 1420. O espectro de RMN de ^{13}C se obteve em um aparelho Bruker de 50,30 MHz para ^{13}C à temperatura ambiente, com uma solução de 150 mg de AH em 1 mL de NaOH 0,5 mol L^{-1} (1:1 $\text{H}_2\text{O:D}_2\text{O}$), usando a sequência INVGATE, com um pulso de 45° , tempo de aquisição de 0,2 s, 16K de tamanho e perto de 200 000 transientes para cada amostra, e utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência ($\delta^{13}\text{C} = 0$) para o cálculo dos deslocamentos químicos dos grupamentos funcionais em ppm.

O espectro UV-Vis (200 a 700 nm) dos AH e o valor da relação E_4/E_6 se conseguiram numa solução de 3 mg de AH em 100 mL de uma solução de NaHCO_3 $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{pH} = 8,5$ (Chen et al., 1977), usando espectrofotômetro Varian DMS 80.

As atribuições e interpretações dos espectros foram feitas tendo como referência às caracterizações realizadas por Garcés (1987), Ruiz (1996), Landgraf et al. (1999), Canellas (1999) e Canellas et al. (1999) para ácidos húmicos provenientes de solos e fontes alternativas de matéria orgânica de Brasil e Cuba.

Essas análises para a caracterização espectroscópica dos AH do vermicomposto foram realizadas em colaboração com o Departamento de Química da UFRRJ e do Laboratório de Solos da UENF.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

A seguir, aparecem os resultados obtidos nos experimentos executados na mesma ordem em que foram descritos no capítulo anterior (Material e Métodos).

4.1.a. Experimento I. Plantas adultas de *Coffea arabica* L. (var. Caturra) com diferentes doses de fósforo provenientes de adubo mineral.

Os resultados da avaliação da distribuição das formas de fósforo foliar extraídas e isoladas em plantas adultas durante o quinto e o sexto anos do estabelecimento da plantação são apresentados a seguir.

O conteúdo de fósforo em forma de fosfatos livres (Figuras 1 e 2) revela que o período de crescimento e desenvolvimento dos frutos induz uma significativa redução nas quantidades desta fração, independentemente da idade da planta.

Embora tenham aparecido diferenças estatísticas entre tratamentos, tanto no quinto quanto no sexto anos para cada etapa analisada, não parece que exista qualquer relação com as doses de fósforo que foram aplicadas no momento do estabelecimento da plantação.

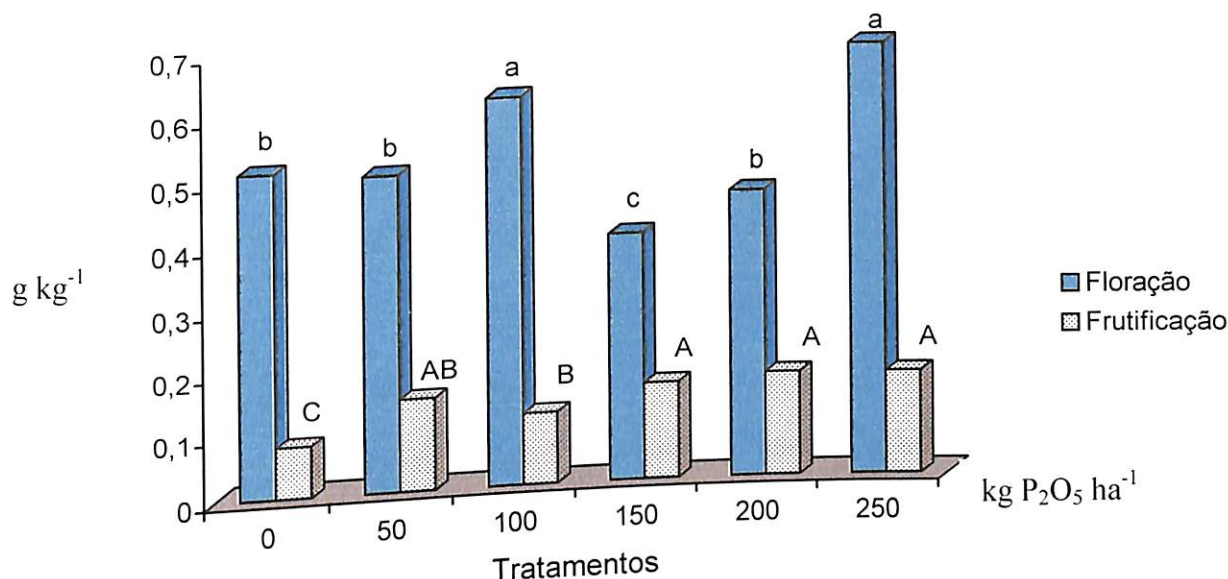


Figura 1. Conteúdo foliar de fósforo inorgânico (Pi), em g de P por kg de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação no quinto ano. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias pelo teste Tukey para $p < 0,05$ (minúsculas para floração e maiúsculas para frutificação, com C.V. de 5,16 e 4,65 % respectivamente).

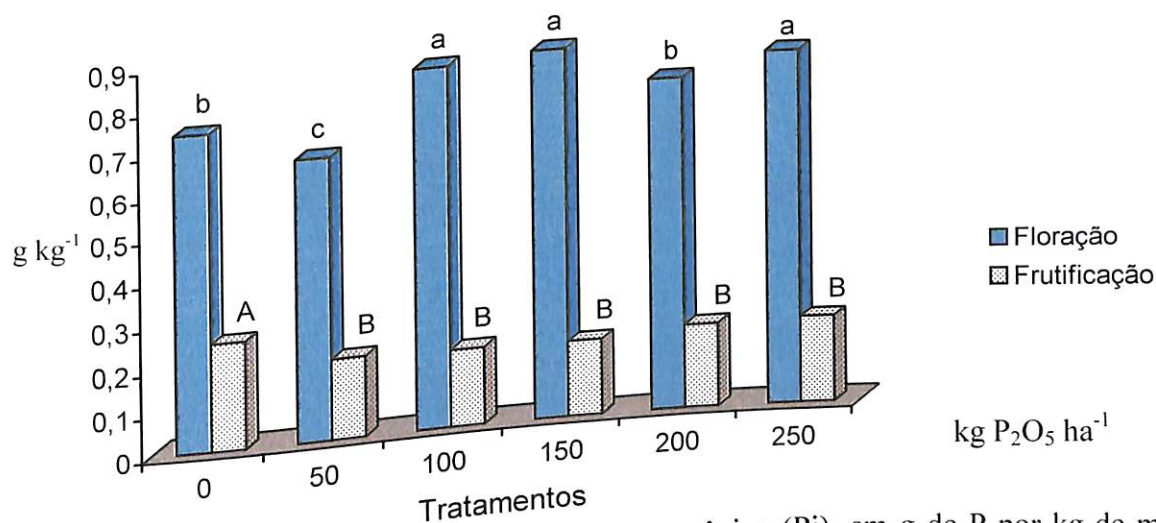


Figura 2. Conteúdo foliar de fósforo inorgânico (Pi), em g de P por kg de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação no sexto ano. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias pelo teste Tukey para $p < 0,05$ (minúsculas para floração e maiúsculas para frutificação, com CV de 4,66 e 6,86% respectivamente).

Valdés (1985), trabalhando com ^{14}C em plantas de café desta mesma variedade e idade semelhante, comprovou que a atividade fotossintética potencial durante a frutificação é muito maior do que na floração. Isto justificaria a tendência encontrada para Pi , pois a intensificação dos processos de síntese de compostos orgânicos em muitas rotas metabólicas, exige a ativação de metabolitos intermediários na forma de derivados fosforilados. Como consequência do raciocínio anterior, as quantidades de fosfatos inorgânicos livres deveriam diminuir como observado nas Figuras 1 e 2.

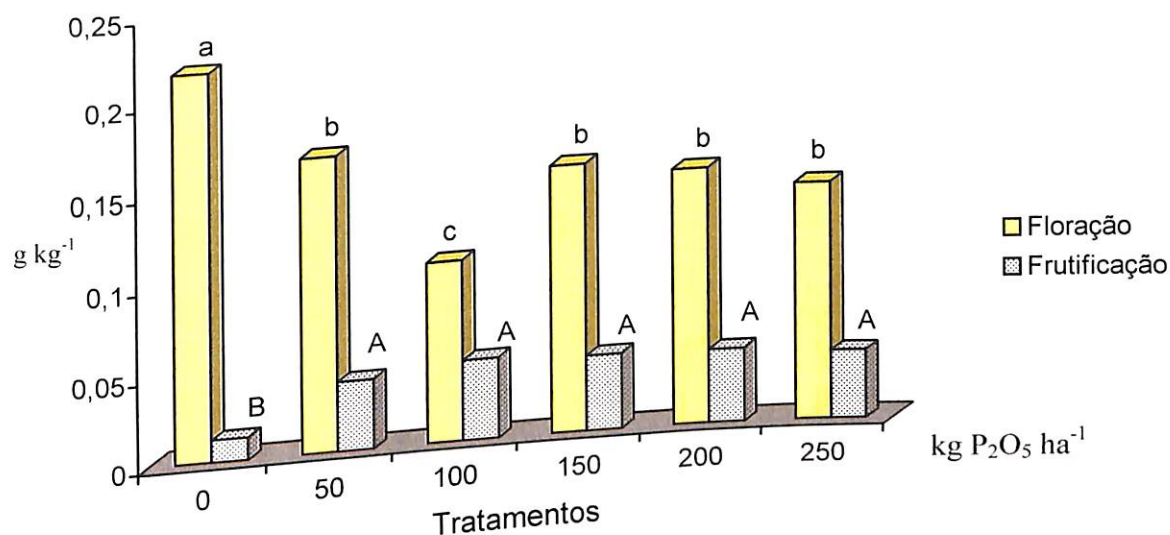


Figura 3. Conteúdo foliar de fósforo como fitina (Pf), em g de P por kg de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação no quinto ano. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias pelo teste Tukey para $p < 0,05$ (minúsculas para floração e maiúsculas para frutificação, com C.V. de 7,43 e 4,23 % respectivamente).

Em relação ao conteúdo foliar de fósforo acumulado sob a forma de fitina (Pfit), foi comprovada uma variação entre etapas com a mesma feição que aquela já exposta para o caso do Pi . Tanto no quinto ano (Figura 3) quanto no sexto (Figura 4), se evidenciou uma

queda significativa das quantidades acumuladas desse elemento, quando comparadas as etapas de floração e de frutificação. Porém, algumas diferenças merecem ser destacadas. Se comparados os conteúdos de Pfit na floração, para ambos os anos, se observa que durante o sexto ano, de um modo geral, as plantas conseguiram acumular mais do que o triplo de fósforo do que no quinto ano. Essa relação foi muito menor (menos do dobro) no Pi. Quando analisada a etapa de frutificação, se comprovou que as quantidades de Pfit nas folhas atingiram níveis semelhantes em ambos os anos, embora o acúmulo na floração tenha sido muito diferente. Isso sugere que os valores encontrados neste indicador constituem o nível crítico ou limite do fósforo na forma de fitina para plantas adultas dessa variedade de cafeeiro, quando não existem deficiências na disponibilidade do elemento no solo.

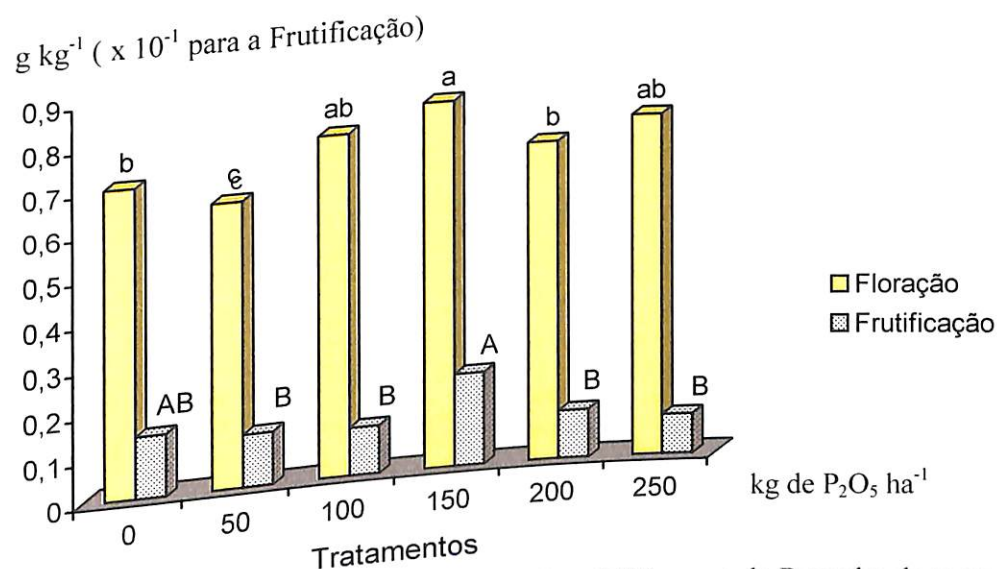


Figura 4. Conteúdo foliar de fósforo como fitina (Pfit), em g de P por kg de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação no sexto ano. Letras diferentes indicam diferença estatística para $p < 0,05$ (minúsculas para floração e maiúsculas para frutificação, com C.V. de 4,98 e 5,32 % respectivamente).

Como aconteceu no caso do Pi, também não parece que as diferenças estatísticas encontradas entre os tratamentos em cada etapa fisiológica, sejam uma consequência direta do efeito das doses de fósforo aplicadas no momento do estabelecimento da plantação.

Os resultados obtidos na avaliação do fósforo foliar esterificando monossacarídeos (Phf), demonstraram que as variações derivadas da etapa fisiológica da planta, foram o contrário das discutidas anteriormente para Pi e Pfit.

Como ilustrado nas Figuras 5 e 6, tanto durante o quinto ano de estabelecida a plantação como no sexto, a frutificação registrou valores maiores no conteúdo desse elemento nesse tipo de composto orgânico fosforado, quando comparada com a floração. Entre anos, como média geral, o Phf da frutificação do sexto ano foi quase o dobro do existente nessa etapa no ano anterior.

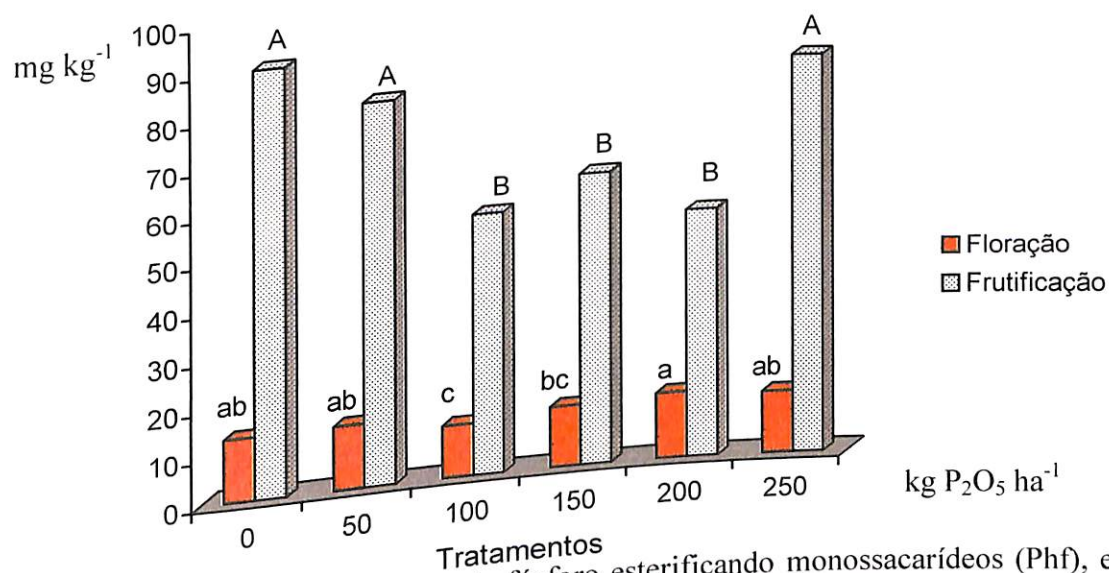


Figura 5. Conteúdo foliar de fósforo esterificando monossacarídeos (Phf), em mg de P por kg de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação no quinto ano. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias pelo teste Tukey para $p < 0,05$ (minúsculas para floração e maiúsculas para frutificação, com C.V. de 4,63 e 5,35 % respectivamente).

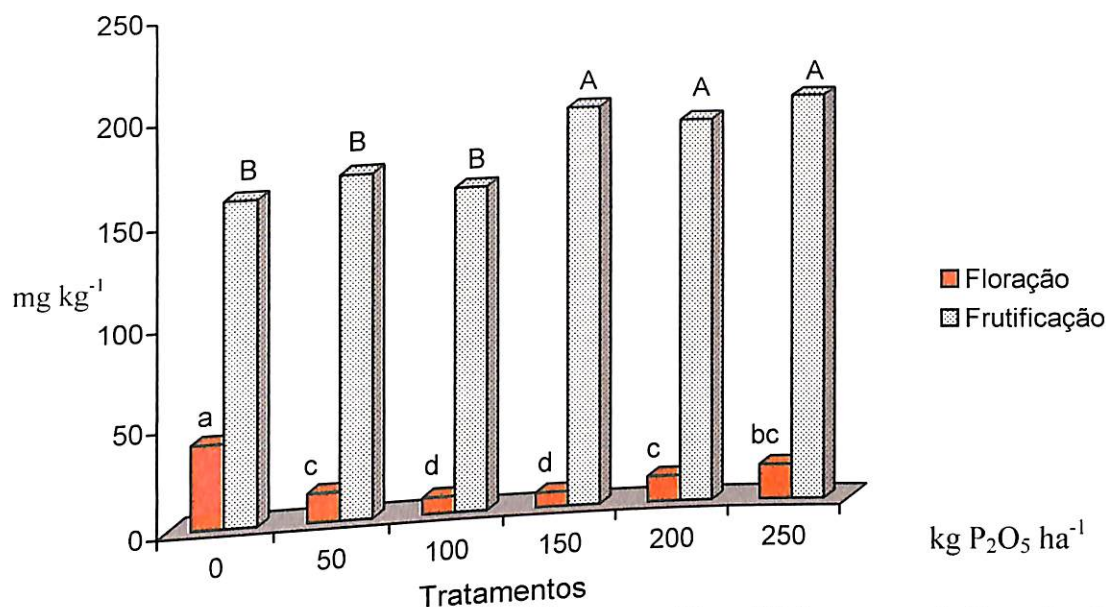


Figura 6. Fósforo foliar esterificando monossacarídeos (Phf), em mg de P por kg de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação no sexto ano. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias pelo teste Tukey, $p < 0,05$ (minúsculas para floração e maiúsculas para frutificação, com C.V. de 5,02 e 3,52 % respectivamente).

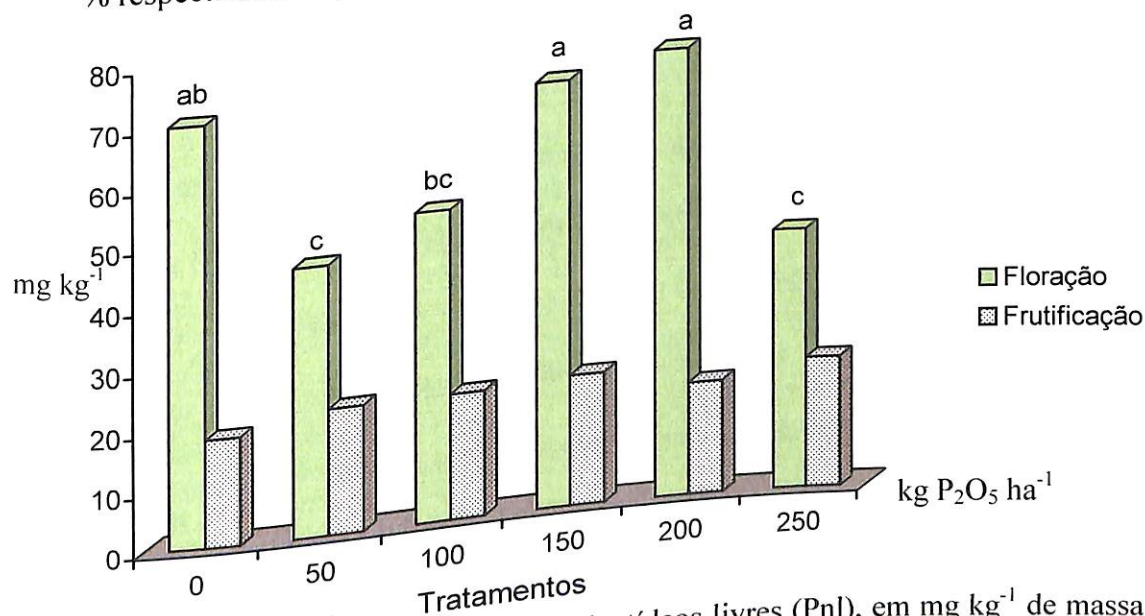


Figura 7. Conteúdo de P como nucleotídeos livres (Pnl), em mg kg⁻¹ de massa seca foliar, durante as etapas de floração e frutificação no quinto ano. Letras distintas indicam diferença estatística significativa entre médias. Teste Tukey para $p < 0,05$ (C.V. = 13,8 % e C.V. = 12,56 % para floração e frutificação respectivamente).

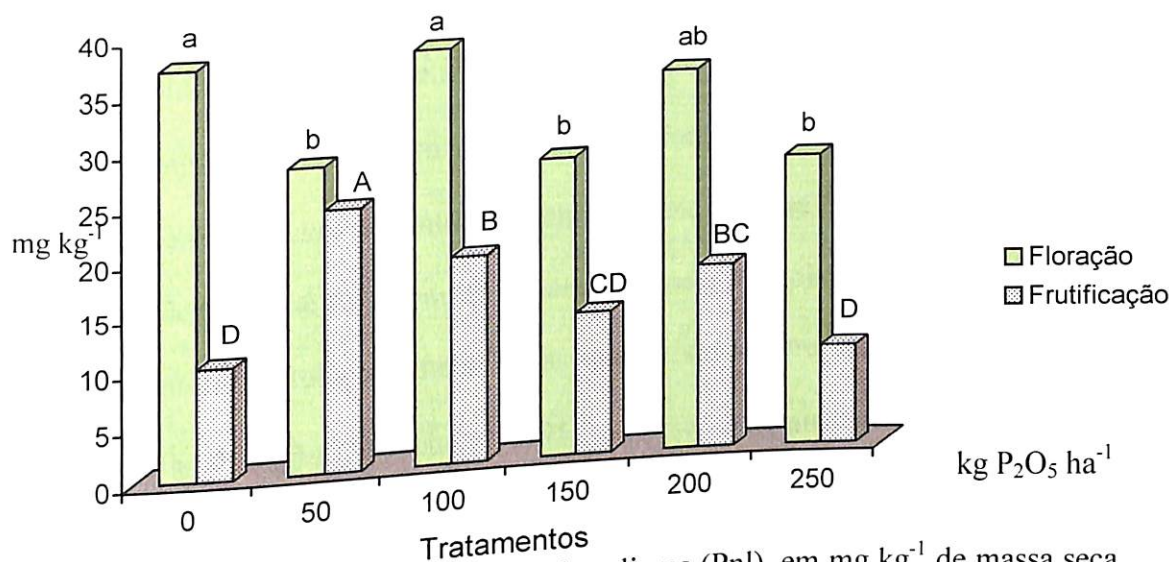


Figura 8. Conteúdo de P como nucleotídeos livres (Pnl), em mg kg⁻¹ de massa seca foliar, durante as etapas de floração e frutificação no sexto ano. Letras distintas indicam diferença estatística significativa (minúsculas na floração e maiúsculas na frutificação). Teste Tukey para $p < 0,05$ com C.V. = 14,1 % e C.V. = 13,92 % para floração e frutificação respectivamente.

Nas Figuras 7 e 8 são apresentados os valores encontrados para o fósforo foliar contido sob a forma de nucleotídeos livres (basicamente ATP, ADP e AMP). A informação ilustrada pelas figuras anteriores demonstra que também para o fósforo que forma parte dos nucleotídeos livres, se produzem variações entre as diferentes etapas fisiológicas estudadas, porém muito menos acentuadas. Embora detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, não constituem evidências de qualquer efeito das quantidades de adubo fosfático aplicado no estabelecimento da plantação. Isto confirma que as plantas procuram manter um nível energético celular estável independentemente das mudanças que aconteçam nas quantidades de outras formas orgânicas lábeis desse elemento na célula. Também sugere que a disponibilidade de fósforo que originalmente existia no

solo, foi suficiente para garantir o desenvolvimento das plantas até o momento de executar essas avaliações. É significativo o fato de que a síntese intensa e translocação de metabolitos para os grãos durante a etapa de frutificação (Araújo, 2000), não foi refletida numa queda importante do fósforo contido nos nucleotídeos livres. Uma explicação desse fenômeno poderia estar nas diminuições sensíveis encontradas tanto no P_i quanto no P_{fit} durante a frutificação, que foram muito maiores do que o acréscimo do conteúdo de Phf .

Pelas múltiplas relações metabólicas que existem entre as formas do fósforo nas plantas após sua absorção (Marschner, 1995), é interessante analisar no conjunto, aquelas que foram estudadas nesse trabalho. Os valores obtidos na somatória do P contido nas frações no quinto ano se apresentam como exemplo dessa análise.

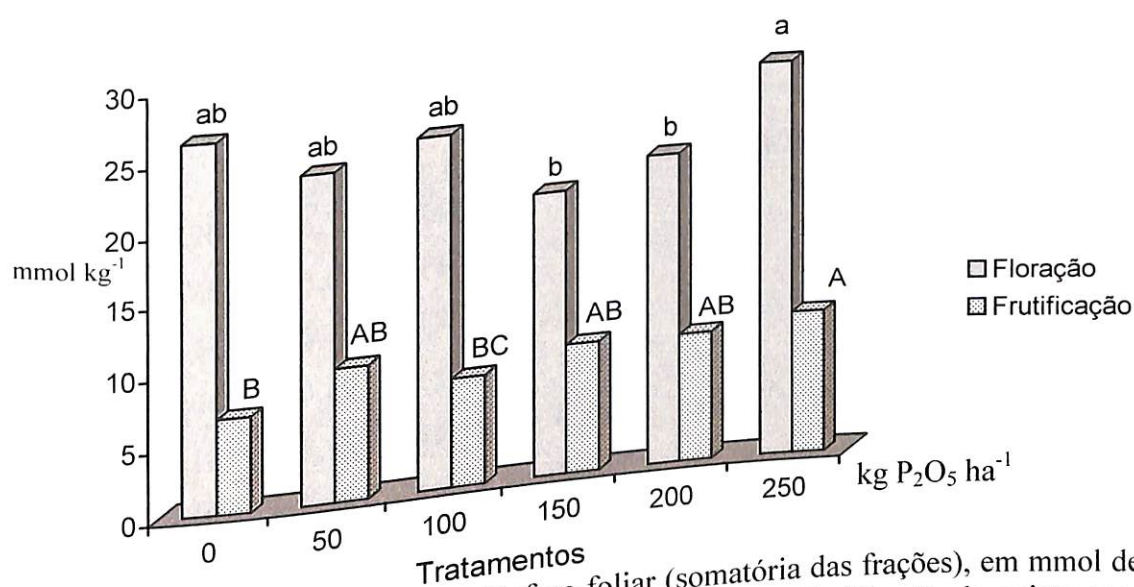


Figura 9. Conteúdo total de fósforo foliar (somatória das frações), em mmol de P kg⁻¹ de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação do quinto ano. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias, pelo teste Tukey para $p < 0,005$ (minúsculas para a floração e maiúsculas para frutificação; C.V. = 12,38 % e C.V.=10,98 % respectivamente).

Além das evidentes diferenças entre as etapas fisiológicas estudadas em termos quantitativos, quando analisada a contribuição relativa de cada uma das formas de fósforo no total anterior (Figura 9), ficam ainda mais evidentes as tendências gerais e a contribuição relativa de cada uma das frações avaliadas, como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 . Contribuição relativa de cada forma de fósforo foliar avaliado no total extraído (mmol de P de cada fração kg^{-1} de P total). MG=média geral

kg ha^{-1}	Quinto ano do estabelecimento da plantação							
	Pi	Pfit		Phf		Pnl		
		Flor.	Frut.	Flor.	Frut.	Flor.	Frut.	
0	20,34	13,19	8,61	3,59	0,53	12,49	2,78	2,81
50	22,34	16,45	7,34	4,45	0,60	9,03	1,98	2,33
100	25,44	15,64	4,22	6,25	0,46	7,51	2,14	2,86
150	20,23	17,74	7,68	4,91	0,66	7,10	3,69	2,51
200	21,31	19,19	6,73	4,81	0,65	6,07	3,54	2,18
250	25,36	17,15	4,91	4,02	0,48	8,82	1,61	2,27
M.G.	22,63	16,75	6,51	4,67	0,56	8,35	2,56	2,46

kg ha^{-1}	Sexto ano do estabelecimento da plantação							
	Pi	Pfit	Phf	Pnl				
0	15,70	15,75	14,90	1,05	0,87	11,96	0,79	0,75
50	16,29	15,66	14,93	1,02	0,35	14,39	0,69	1,19
100	16,31	15,73	15,06	0,97	0,15	14,15	0,73	1,41
150	16,06	13,89	15,56	1,67	0,13	15,67	0,51	1,03
200	16,13	15,18	15,15	0,86	0,26	14,89	0,72	1,33
250	16,19	15,38	15,22	0,69	0,33	15,49	0,52	0,69
M.G.	16,11	15,26	15,15	1,04	0,34	14,41	0,65	1,05

Da análise da Tabela anterior se evidencia, que mesmo acontecendo uma diminuição considerável das quantidades absolutas de fósforo foliar acumulado como fitina, na transição da etapa de floração para a frutificação, esta mudança não foi

expressiva em termos relativos durante o quinto ano. No caso do P_i , as diferenças entre etapas fisiológicas para os anos estudados, foram menos acentuadas em função do total das frações do que quando expressados em relação à massa seca foliar.

É um fato interessante que a distribuição relativa de P_i tenha sido semelhante, quando comparadas as etapas de frutificação nos dois anos avaliados. Isto parece indicar que nesse período de intenso crescimento reprodutivo, caracterizado pelo dreno de metabolitos foliares (incluindo compostos fosforilados) para os frutos, o fósforo inorgânico livre desempenha a função de intermediário dos processos de fosforilação e defosforilação de moléculas orgânicas (Araújo, 2000).

Por um outro lado, se confirma a estabilidade, entre as etapas fisiológicas, do fósforo que integra os nucleotídeos livres e, também, o acréscimo significativo na utilização deste elemento na esterificação de monossacarídeos durante a frutificação. Finalmente, se ratifica que na planta de café adulta, tanto o conteúdo absoluto de fósforo em função da massa seca foliar, como sua distribuição relativa entre as frações estudadas, servem para ilustrar a característica bienal de produção dessa cultura.

Na literatura científica consultada não apareceu nenhum estudo semelhante analisando modificações no metabolismo foliar do fósforo em plantas perenes durante o crescimento reprodutivo.

Ortega & Musienko (1982) estudaram a distribuição do fósforo em diferentes partes de plantas de cana-de-açúcar com diversas idades e submetidas a várias doses de adubo mineral fosfático. Esses autores encontraram que os maiores níveis de P_i e P_{nl} se concentravam nos tecidos meristemáticos, mas nem a idade nem a dose de P aplicado induziram diferenças.

Guridi (1996), trabalhando com ^{32}P em plantas dessa variedade durante o primeiro ano após o transplante, encontrou que nessa fase de franco crescimento vegetativo, o fósforo em forma inorgânica livre corresponde aproximadamente a 25 % do P total presente nas folhas, o que está muito próximo dos valores detectados nesse experimento.

4.1.b. Experimento II. Combinações de duas fontes de matéria orgânica e adubo mineral em plantas adultas.

Os resultados obtidos na avaliação do conteúdo foliar de P, nas mesmas formas metabolicamente ativas estudadas no experimento anterior, durante as etapas de floração e frutificação após quatro anos de estabelecidas as diferentes condições nutricionais, são mostrados a seguir.

As mesmas tendências observadas no experimento anterior, nas variações das formas do fósforo foliar entre as diferentes etapas fisiológicas estudadas, foram verificadas com a mudança na fonte de P. No entanto foram encontrados valores menores nas quantidades de P em cada fração. Tanto o Pi como Pfit tiveram níveis inferiores em todos os tratamentos, quando comparadas floração e frutificação, e no caso do Phf aconteceu o contrário novamente, ou seja, aumento das quantidades do elemento na transição para o período de crescimento reprodutivo mais intenso.

Os valores obtidos do conteúdo de P nas frações foliares extraídas para cada uma das etapas fisiológicas estudadas, manifestaram diferença estatística entre os tratamentos como representado na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidades de fósforo (g kg^{-1} de massa seca foliar) contidas nas frações inorgânica livre (Pi), acumulado como fitina (Pfit), esterificando monossacarídeos (Phf) e incorporado nos nucleotídeos livre (Pnl).

Floração

Trat.	Composição	Pi	Pfit	Phf	Pnl
1	eg + am	1,500 a	0,41 c	0,12 ab	0,14 a
2	tf + am	0,930 b	0,52 bc	0,11 b	0,12 ab
3	tf	0,620 c	0,50 c	0,07 c	0,11 b
4	eg	0,615 c	0,75 a	0,14 a	0,10 b
5	am	0,595 c	0,62 b	0,13 ab	0,11 b
C.V. (%)		10,08	9,01	8,01	9,04

Frutificação

Trat.	Composição	Pi	Pfit	Phf	Pnl
1	eg + am	0,710 a	0,31 ab	0,33 b	0,27 b
2	tf + am	0,705 a	0,27 b	0,51 a	0,39 a
3	tf	0,510 b	0,34 ab	0,21 c	0,38 a
4	eg	0,470 b	0,36 a	0,33 b	0,34 ab
5	am	0,530 b	0,33 ab	0,36 b	0,23 b
C.V. (%)		5,67	10,13	7,60	9,68

Letras distintas indicam diferença estatística significativa entre tratamentos (teste de Tukey para $p < 0,005$). (tf= torta de filtro; eg= esterco de gado; am= adubo mineral).

O fato de terem sido encontradas as mesmas tendências anteriormente descritas, agora com plantas de outra idade e em diferentes condições nutricionais, as reforça como

características inerentes à cultura estudada. Porém, apareceram algumas peculiaridades nas respostas detectadas que precisam serem discutidas.

Tanto na floração quanto na frutificação, a combinação das fontes de matéria orgânica com o adubo mineral, provocou aumentos no conteúdo de P_i que oscilaram entre 50 e 150 % na floração e entre 30 e 48 % na frutificação, quando comparados aos demais tratamentos nas respectivas etapas fisiológicas. Esse acúmulo de P_i não teve repercussão nas formas orgânicas, o que poderia ser interpretado como uma absorção de luxo. As quantidades de matéria orgânica empregadas (40 t ha^{-1} , com porcentagens totais de P de 0,31 e 0,70 para o esterco de gado e a torta de filtro, respectivamente), em uma plantação com densidade de $5000 \text{ plantas ha}^{-1}$, representam uma contribuição na disponibilidade de P (supondo mineralização de 100%) de apenas 20 % aproximadamente em relação ao adubo mineral. Isso torna mais complexa a interpretação dos referidos acréscimos no P_i foliar, que não são justificáveis simplesmente pela liberação do P contido nas fontes, como resultado da decomposição microbiana do material orgânico incorporado.

Uma outra questão que merece destaque é o comportamento das plantas onde foi aplicado o esterco de gado, pois foi induzida uma distribuição quantitativa do P foliar semelhante e às vezes melhor do que a adubação mineral.

É necessário lembrar que este estudo foi feito quatro anos após o estabelecimento dos tratamentos, e que o esterco de gado está constituído pelos resíduos do processo digestivo do animal, e conseqüentemente formado por estruturas químicas de maior estabilidade. Estas condições devem ter dado origem a substâncias húmicas com diferenças (comparando com a torta de filtro) nas quantidades dos grupamentos funcionais que as definem, e provavelmente na capacidade de interferir nas propriedades físicas e químico-

físicas do solo, mesmo nos efeitos diretos sobre o desempenho fisiológico da planta. A literatura científica recente tem refletido um crescente interesse no estudo da qualidade do solo através das características estruturais e atividade das substâncias húmicas (derivadas da composição quantitativa e qualitativa do material original incorporado) e a atividade bioquímica que predomina no solo (Pinton et al., 1999, Nardi et al., 1999, Islam & Weil, 2000, Marstorp et al., 2000, Filcheva et al., 2000, Cole et al., 2000, Leirós et al., 2000, 2000, Trasar-Cepeda et al., 2000, MacGrath et al., 2000, Lu et al., 2000, Lorenz et al., 2000, são alguns exemplos).

Vale a pena também esclarecer que uma outra razão que influencia sobre o conteúdo de P detectado nas diversas frações na etapa de frutificação (muito superiores aos encontrados para esta etapa no experimento com adubo mineral) é o momento da amostragem.

Para evitar iminentes danos na plantação por condições climatológicas de prognóstico muito desfavoráveis, foi antecipada em 30 dias a data inicialmente programada, que seria coincidente com o experimento anterior. Nesse experimento os frutos estavam ainda no estágio primário de crescimento, enquanto no outro essa fase já tinha sido ultrapassada.

Simultaneamente com a extração, isolamento e avaliação das formas do fósforo foliar descritas, se executou a digestão nítrico-perclórica no mesmo material coletado, para determinar o conteúdo total do elemento nas ambas etapas fisiológicas.

Como ilustrado pela Figura 10, o fósforo total foliar derivado da digestão não ofereceu nenhuma informação que diferencie, em termos metabólicos, as etapas estudadas.

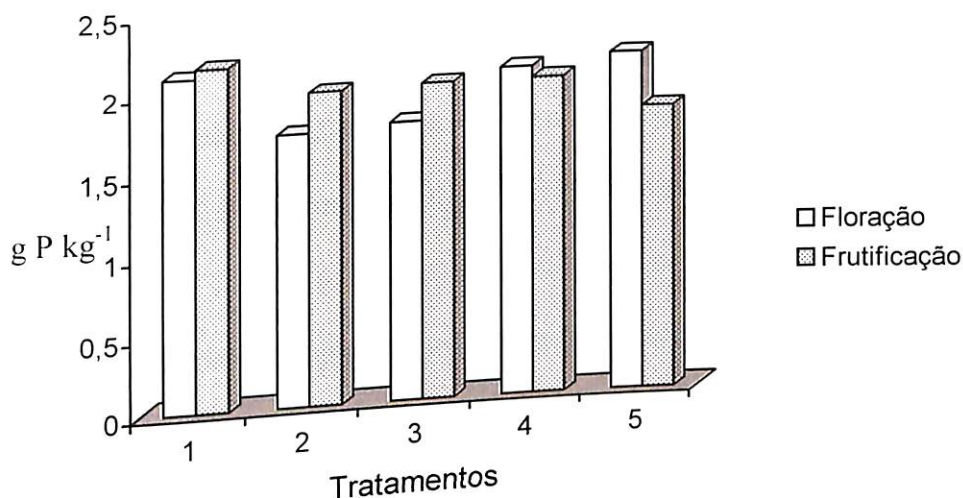


Figura 10. Conteúdo de P total foliar (digestão $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$) em g de P kg^{-1} de massa seca, durante as etapas de floração e frutificação. (1= adubo mineral + esterco de gado; 2= adubo mineral + torta de filtro; 3= esterco de gado; 4= torta de filtro; 5= adubo mineral).

A determinação do P total foliar, empregando diversos procedimentos de digestão, continua sendo recomendada como indicador para o diagnóstico do estado nutricional das plantas quanto a esse elemento e para recomendações de fertilização fosfatada (Silva, 1999).

Segundo os resultados apresentados até aqui, pelo menos para o cultivo do cafeeiro, não parece que tal recomendação seja completamente válida e outras pesquisas deverão ser desenvolvidas, visando determinar qual das formas do fósforo foliar poderia refletir com maior precisão e exatidão, as reais condições em que se encontra o metabolismo do elemento. Provavelmente, em função da informação acumulada nos experimentos executados, o conteúdo de fósforo como fitina se apresenta com características

interessantes que levam a crer que essa seja a melhor fração para tal avaliação, no caso do cafeeiro.

Chapin & Bielecki (1982) trabalhando com duas espécies de feijão encontraram que as frações P_i , P_{nl} , P_{hf} e P como fosfolipídeos (Plip) responderam de maneira diferentes quando o conteúdo de P total (digestão) aumentou, e que para condições de estresse na disponibilidade do elemento, as plantas acumularam as frações orgânicas nas raízes.

Segundo Hart & Jessop (1983), plantas de *Trifolium repens* e *Lotus pedunculatus* agiram de maneira diferente ao acréscimo no fornecimento de fósforo. Nas primeiras o aumento na dose de fósforo não teve efeito na massa seca da parte aérea, mas tiveram maior conteúdo de P_i . Entanto nas outras aconteceu o contrário. Em ambas as espécies a declinação rápida do P total (digestão) foliar não aconteceu com frações como Plip e P_{hf} .

Elliot & Laüchli (1985) detectaram diferenças na velocidade de utilização do P entre genótipos de milho, que esteve correlacionada com a acumulação relativa de P_i , indicando que a utilização do P depende da sua distribuição entre formas orgânicas e inorgânicas.

Foyer & Spencer (1986), trabalhando com *Hordeum vulgare* L. e *Glycine Max* L., encontraram melhor correlação entre o P_i e a taxa de fotossíntese, e o conteúdo foliar total de P se manifestou como um critério pobre para correlacionar com a deficiência no fornecimento do elemento.

As citações anteriores confirmam que em cada espécie é necessário um estudo específico sobre qual o melhor indicador do metabolismo foliar do fósforo, e que nem sempre o conteúdo total obtido através da digestão oferece uma informação útil para o diagnóstico de possíveis distúrbios metabólicos.

Por último, esse experimento onde foram combinadas duas fontes de matéria orgânica e adubo mineral, confirmou o que já tinha se observado no experimento anterior. Em solos com características de fertilidade semelhantes ao utilizado, é possível prescindir da adubação mineral fosfática por um período de tempo relativamente longo.

4.2.a. Experimento III. Efeitos de quatro fontes de matéria orgânica na obtenção de mudas de café (*Coffea arabica* L., variedade Caturra).

A avaliação da área foliar ao longo do crescimento das mudas a partir da emissão do primeiro par de folhas verdadeiras aparece resumida na Tabela 3.

Tabela 3 . Área foliar (dm^2) aos 135, 150, 163, 205 e 225 dias após emissão (DAE) do primeiro par de folhas verdadeiras em mudas obtidas com quatro fontes de matéria orgânica (vc=vermicomposto, co=composto, eg=esterco de gado, tf= torta de filtro) misturadas com solo em proporção 1:5 (fonte:solo, v:v).

FONTE	135 DAE	150 DAE	163 DAE	205 DAE	225 DAE
vc	2,87 a	3,89 a	4,51 a	5,67 a	7,88 a
co	2,16 b	2,87 b	3,46 b	3,84 c	5,62 b
eg	1,62 c	1,89 c	2,66 c	3,54 c	4,70 c
tf	2,14 b	2,74 b	3,56 b	4,63 b	4,98 bc
C.V. (%)	10,02	8,39	9,29	7,62	6,25

Letras minúsculas distintas representam diferença estatística significativa entre médias de uma mesma data, segundo teste de Tukey para $p < 0,05$.

Com o substrato formado com vermicomposto se obtiveram as mudas que desenvolveram maior área foliar (Tabela 3). Dentre os demais tratamentos, o composto teve a maior velocidade de produção média diária de área foliar no último intervalo de tempo ($8,9 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$) quando comparado ao esterco de gado e torta de filtro ($5,8$ e $1,75 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ respectivamente). Torna-se interessante comparar essas velocidades de produção média de área foliar ao longo de todo o experimento como ilustrado na Figura a seguir.

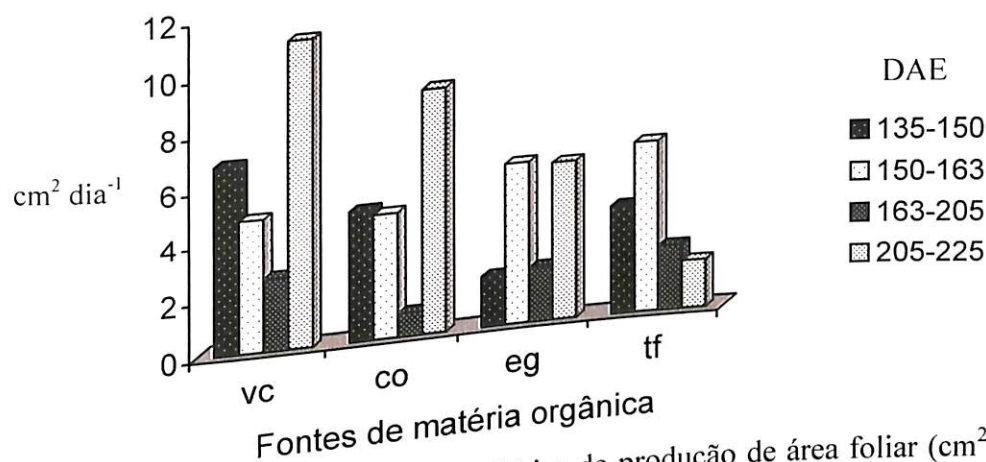


Figura 11. Velocidades médias diárias de produção de área foliar ($\text{cm}^2 \text{ dia}^{-1}$) nos diferentes intervalos de tempo, durante a obtenção de mudas com as quatro fontes de matéria orgânica estudadas. (vc= vermicomposto, co= composto, eg= esterco de gado, tf= torta de filtro).

Fica claramente comprovado que as mudas apresentaram comportamentos diferentes quando comparadas as tendências gerais obtidas em cada fonte de matéria orgânica, mesmo tendo sido incorporadas numa proporção idêntica ao solo durante a preparação dos substratos.

As diferenças manifestadas pelas mudas obtidas com as diversas fontes, tanto nos valores absolutos atingidos pela área foliar, quanto nas velocidades médias com que foi produzida, não parecem ser consequência simples das diferenças nos conteúdos de carbono

orgânico prontamente oxidável e dos elementos minerais totais originalmente presentes nas fontes de matéria orgânica. Porém, esses dois indicadores têm sido freqüentemente empregados como critério para caracterizar a qualidade das fontes de matéria orgânica a serem usadas em diversas práticas agrícolas, incluindo a preparação de substratos para obtenção de mudas em viveiros (Paneque & Martinez, 1992; Grass & Fernández, 1993; Terán et al., 1994; Stringheta et al., 1997; Mourão Filho et al., 1998; Modolo & Tessarioli, 1999).

A relação entre a área foliar e a altura das mudas ao longo do experimento é apresentada na Figura seguinte.

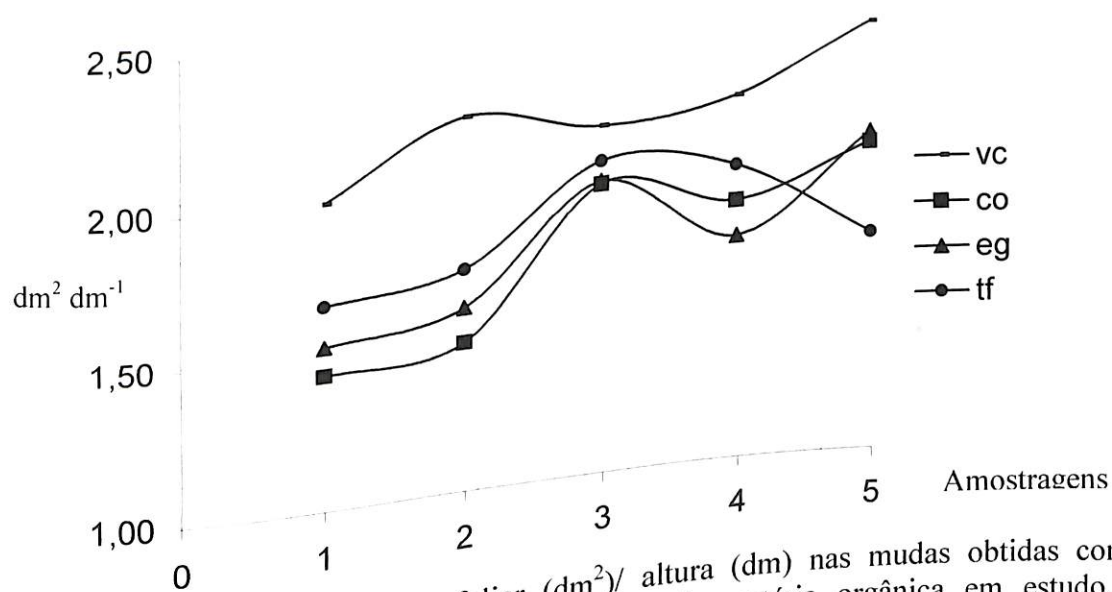


Figura 12. Relação área foliar (dm^2)/ altura (dm) nas mudas obtidas com os substratos formados pelas quatro fontes de matéria orgânica em estudo, nas diferentes amostragens sucessivas realizadas (135, 150, 163, 205 e 225 DAE respectivamente).

Como demonstrado pela Figura anterior, no caso das mudas desenvolvidas no substrato onde foi empregado o vermicomposto (vc), foi verificada uma tendência geral

diferente da mostrada pelos outros substratos. A adição do vermicomposto exerceu sua principal influência sobre a produção de maior superfície interceptora de energia radiante.

Van Volkenburgh (1999) concluiu que a expansão foliar é um indicador integrador do comportamento das plantas, pois está determinada em parte por fatores genéticos e em parte pelas condições do ambiente. Dentre os fatores exógenos que regulam a expansão das células da epiderme e do mesófilo das folhas destacou como os mais relevantes a quantidade e qualidade da radiação incidente (provoca mudanças na atividade de extrusão de prótons), a presença e concentração de fitohormônios (considerando os endógenos) de todos os tipos, condições fisiológicas de outros órgãos da planta e o déficit hídrico. Também tinha reportado que o crescimento das folhas tratadas com auxinas não implicava acidificação apreciável da parede celular, e conseqüentemente independe parcialmente da atividade de extrusão de prótons.

De acordo com as condições em que foi executado o experimento descrito neste trabalho (luminosidade controlada e atenções culturais idênticas para todos os tratamentos), os efeitos diferenciados encontrados nas mudas obtidas e desenvolvidas no substrato com vermicomposto, indicam a necessidade de aprofundar na possível existência de atividade semelhante aos fitohormônios nessa fonte de matéria orgânica.

A Tabela 4 contém o resultado da avaliação da massa seca foliar específica (MFE) das mudas aos 205 DAE em todos os tratamentos. Se analisadas as informações sobre os indicadores de crescimento avaliados de forma conjunta, a MFE e os conteúdos de pigmentos verdes foliares, torna-se evidente que no caso do vermicomposto tem se produzido, por alguma via, uma influência, por enquanto não esclarecida, que favorece maior eficiência na conversão da energia radiante interceptada em tecido vegetal.

As mudas do substrato preparado a partir de vermicomposto desenvolveram uma superfície foliar significativamente maior, o que provavelmente se traduz numa necessidade menor de sintetizar os pigmentos receptores, e com isso aumentar a eficiência de utilização do CO_2 absorvido.

Tabela 4. Massa seca foliar específica (MFE) em g m^{-2} , conteúdo de pigmentos verdes (g kg^{-1} de massa seca) e relação cl a/ cl b aos 205 DAE (cl a = clorofila "a"; cl b = clorofila "b"; cl a+b = clorofilas totais).

FONTE DE M.O.	MFE (g m^{-2})	cl a + b	cl a / l b
Vermicomposto	167,7 c	2,65 d	5,71 b
Composto	311,4 a	5,29 a	4,56 c
Esterco de gado	196,4 c	3,44 c	7,66 a
Torta de filtro	257,3 b	4,18 b	5,91 b
C.V. (%)	6,3	4,7	3,5

Letras minúsculas distintas indicam diferença estatística significativa na comparação das médias segundo teste de Tukey para $p < 0,005$.

Também não se descarta o fato que uma possível atividade (direta o indireta) semelhante aos fitohormônios no vermicomposto, tenha repercussões no metabolismo secundário que provoquem mudanças nas quantidades absolutas dos pigmentos fotossintéticos e no acúmulo de fotossintatos.

Na literatura científica recente aparecem varias pesquisas onde variações tanto no conteúdo de pigmentos fotossintéticos como na taxa de fotossíntese líquida, são descritas como respostas de diferentes tipos de plantas (milho, feijão, pastagem, etc) às modificações na intensidade e qualidade da radiação incidente, a temperatura e outros fatores externos

(Olah & Masarovicova, 1997; Poskuta et al., 1998; Havaux & Tardy, 1999; Haldiman, 1999).

A partir da análise integral das respostas encontradas nas mudas desenvolvidas no substrato com vermicomposto e pelo decisivo papel que desempenha o fósforo nos estágios iniciais do crescimento das plantas de café (Guridi, 1996), se conduziram experimentos com duas doses desta fonte de matéria orgânica e incluindo ou não fungos micorrízicos arbusculares. Os resultados obtidos nesses experimentos são apresentados a seguir.

4.2.b. Experimento IV. Efeitos de duas doses de vermicomposto e *Glomus manihotis* no desenvolvimento de mudas de café.

A Figura 13 contém os resultados da determinação do conteúdo de carboidratos totais foliares (expressados como g de glicose por kg de massa seca foliar), nos três momentos de amostragens indicados.

As análises estatísticas correspondentes a cada amostragem sempre refletiram diferenças entre os tratamentos, e algumas tendências parecem se manifestar.

As mudas desenvolvidas no solo sem qualquer adição complementar (tratamento "s") e aquelas obtidas com adubação mineral completa (tratamento "amc") mantiveram quantidades de carboidratos totais foliares superiores aos demais tratamentos e muito próximas entre elas.

Embora não sejam diferenças marcantes, parece que a inoculação com o fungo micorrízico arbuscular (FMA) induziu no início um pequeno acréscimo no conteúdo de carboidratos totais, que diminuiu expressivamente ao final da fase de viveiro.

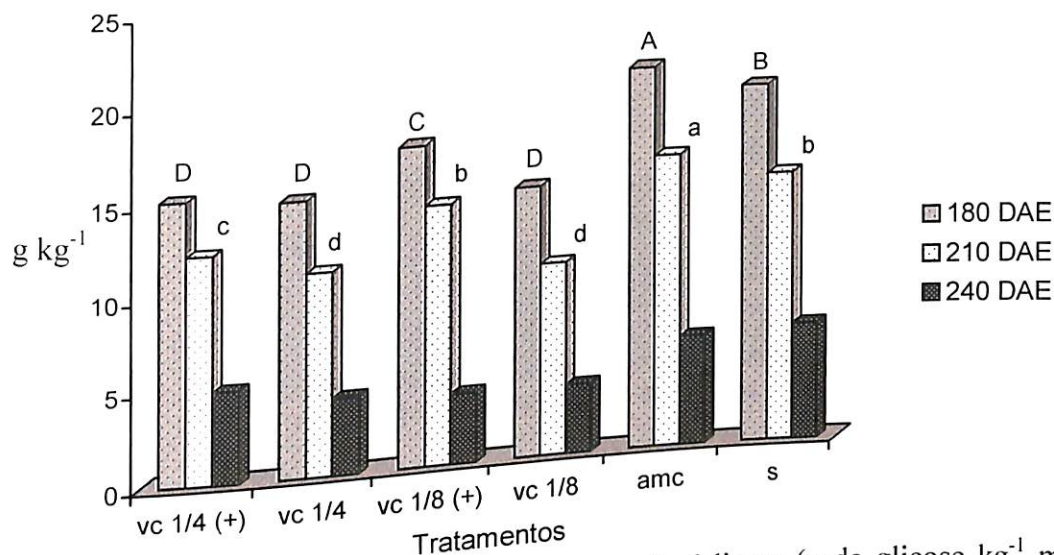


Figura 13. Conteúdo de carboidratos totais foliares (g de glicose kg⁻¹ massa seca foliar) aos 180, 210 e 240 DAE (C.V. 4,64 %, 4,47 % e 8,84 % respectivamente) em mudas de café obtidas em diferentes substratos (vc=vermicomposto, amc= solo com adubação mineral completa, 1/4 e 1/8 proporções vermicomposto:solo, s = solo, (+) = inoculação com *Glomus manihotis*). Letras distintas indicam diferença estatística entre as médias (teste de Tukey para $p < 0,005$).

Independentemente da condição nutricional imposta pelos diferentes substratos, as mudas manifestaram uma tendência geral à diminuição nas quantidades de carboidratos totais foliares ao longo do experimento, provavelmente devida à crescente demanda dessas estruturas carbonadas para sintetizar tecidos e outros metabolitos essenciais para o crescimento e o desenvolvimento.

Na literatura consultada não foi encontrado nenhum estudo precedente sobre a dinâmica do conteúdo de carboidrato totais foliares em plantas ou mudas de café.

A figura que aparece a seguir contém o resultado da avaliação do conteúdo de carboidrato redutores nas folhas das mudas aos 240 DAE.

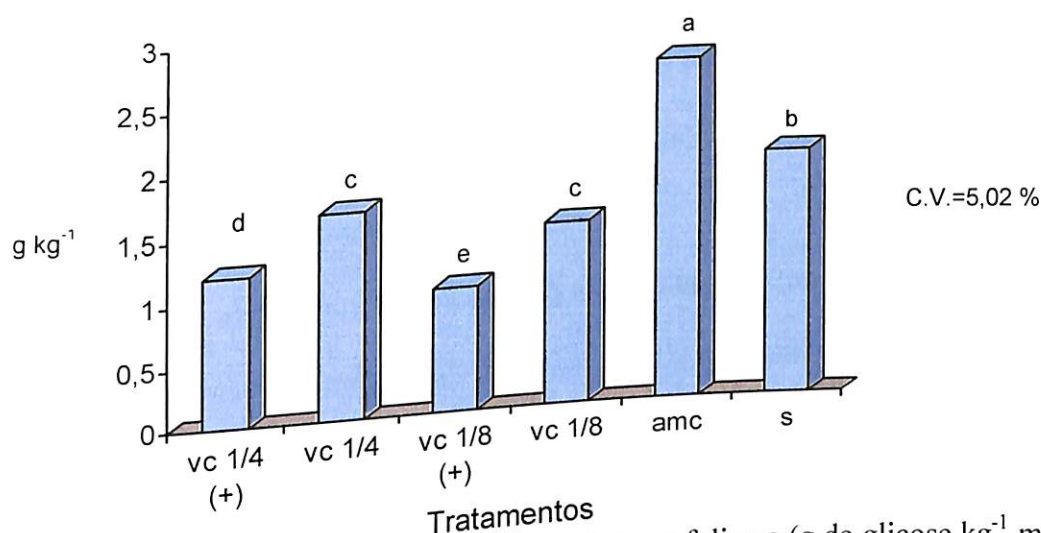


Figura 14. Conteúdo de carboidratos redutores foliares (g de glicose kg⁻¹ massa seca foliar) aos 240 DAE em mudas de café obtidas em diferentes substratos (vc=vermicomposto, amc= solo com adubação mineral completa, 1/4 e 1/8 proporções vermicomposto:solo, s = solo, (+) = inoculação com *Glomus manihotis*). Letras diferentes indicam diferença estatística entre médias pelo teste Tukey para $p < 0,005$.

Nesse indicador foram detectados novamente os menores valores entre as mudas obtidas com vermicomposto quando comparadas com aquelas da adubação mineral completa e do solo. Porém, nos tratamentos onde foi inoculado o FMA, se manifestou uma queda nas quantidades de carboidratos redutores foliares, em relação ao substrato de igual proporção de vermicomposto.

Aos 240 DAE, tanto para a proporção 1: 4 como para 1: 8, os carboidratos redutores representaram aproximadamente 25 % do conteúdo total de carboidratos foliares nas plantas inoculadas com FMA, entanto foi quase o 40 % nas não inoculadas.

Se combinadas as informações obtidas das Figuras 13 e 14 para os tratamentos com o vermicomposto e FMA, se poderia inferir que a queda nas quantidades de carboidratos redutores e o aumento nos carboidratos totais estão diretamente relacionados.

Siqueiras (1996), Pfeffer et al. (1999) e Siqueiras & Klauberg (2000) confirmam que a manutenção da associação mutuamente benéfica entre FMA e a planta hospedeira, pressupõe dreno de estruturas carbonadas da planta (principalmente carboidratos) em troca de elementos minerais (especialmente fósforo).

Schellenbaum et al. (1999) trabalhando com plantas de fumo inoculadas com *Glomus mosseae* detectaram diminuição de hexoses nas folhas e acúmulo de dissacarídeos nas raízes.

Este mesmo FMA foi utilizado por Muller et al. (1999) em *Hordeum vulgare* encontraram acumulação de fructanos nas raízes e diminuição nas folhas das plantas inoculadas, com uma mudança geral no padrão de distribuição de carboidratos nos órgãos da planta em relação às não inoculadas.

As determinações dos pigmentos fotossintéticos foliares que foram realizadas aos 180 e 240 DAE, indicaram diferenças estatísticas entre os tratamentos para ambas as amostragens.

Na segunda amostragem ficaram claramente esboçadas algumas tendências que sugerem efeitos tanto da proporção de vermicomposto usada na preparação dos substratos, quanto da inoculação com o FMA.

A Tabela 5 (A e B) contém os resultados das avaliações dos pigmentos fotossintéticos foliares. Nota-se que ao final da fase de viveiro (240 DAE) as mudas que se desenvolveram nos substratos com vermicomposto onde foi inoculado o FMA, apresentaram valores absolutos dos conteúdos de pigmentos verdes e de carotenóides um pouco inferiores às que cresceram não inoculadas, mas esta pequena queda não teve repercussão na relação entre ambos os tipos de pigmentos.

Tabela 5. Conteúdos de pigmentos fotossintéticos foliares (g kg^{-1} de massa seca foliar) aos 180 e 240 DAE. (cl a = clorofila "a"; cl b = clorofila "b"; cl a+b = clorofilas totais; car = carotenóides totais; cl a+b/car = relação clorofilas totais / carotenóides totais).

180 DAE					
Tratamentos	cl a	cl b	cl a+b	car.	cl a+b/car
vc 1:4 + FMA	1,34 a	0,25	0,61 a	0,68	2,39 b
vc 1:4	1,21 b	0,21	1,42 b	0,64	2,34 b
vc 1:8 + FMA	1,38 a	0,26	1,64 a	0,62	2,64 a
vc 1:8	1,17 b	0,24	1,41 bc	0,60	2,42 b
amc	1,22 b	0,25	1,49 ab	0,68	2,23 bc
s	0,96 c	0,22	1,21 c	0,62	1,99 c
C.V. (%)	7,01	5,15	9,12	6,51	7,91
240 DAE					
Tratamentos	cl a	cl b	cl a+b	car.	cl a+b/car
vc 1:4 + FMA	3,20 b	0,71 c	3,91 d	0,79 c	5,08 a
vc 1:4	3,84 a	0,80 bc	4,63 a	0,96 bc	4,85 ab
vc 1:8 + FMA	3,30 b	0,76 c	4,07 c	0,98 bc	4,19 c
vc 1:8	3,70 a	0,89 b	4,59 a	1,04 a	4,45 c
amc	3,39 b	0,75 c	4,14 c	0,89 bc	4,65 bc
s	3,33 b	1,00 a	4,33 b	1,01 a	4,32 c
C.V. (%)	4,43	6,22	4,7	9,92	4,82

Letras minúsculas distintas indicam diferença estatística entre medias segundo teste Tukey para $p < 0,05$.

Essas aparentes influências dos tratamentos sobre os conteúdos e relações entre os pigmentos fotossintéticos avaliados não teve igual manifestação aos 180 DAE. As

diferenças detectadas na clorofila "a" evidentemente determinaram nos resultados encontrados nos pigmentos verdes totais e a relação destes com os carotenóides totais.

Resultou interessante ter comprovado variações substanciais nos conteúdos foliares dos pigmentos avaliados segundo avançou a fase de viveiro, e que as mudas, em geral, atingiram valores da relação $cl\ a + b/car.$ muito próximos aos encontrados por Valdés (1985) em plantações da mesma variedade em produção.

Na produção de mudas de café nenhum indicador bioquímico-fisiológico é utilizado para definir o momento ideal de executar o transplante, nem para avaliar a qualidade da mudas. Apenas algumas variáveis morfológicas (geralmente por apreciação visual), como por exemplo número de pares de folhas e altura, constituem os critérios de decisão.

Os resultados obtidos permitem sugerir a necessidade de um estudo posterior mais detalhado sobre a dinâmica dos pigmentos em mudas de café sob diversas condições nutricionais, com objetivo de estabelecer relações matemáticas capazes de predizer o momento ideal para transplantar, e avaliar a qualidade da muda.

Na literatura consultada, os trabalhos relacionados aos fotossistemas I e II, e a fotossíntese em plantas de café têm estado dedicados a estudar esses aspectos principalmente em função da intensidade de radiação incidente, da absorção de nitrogênio, da atividade da nitratedutase, das condições edafoclimáticas e do regime hídrico (Nunes et al., 1993; Fahl et al., 1994; Da Matta & Maestri, 1997; Da Matta et al., 1997a; Da Matta et al., 1997b; Ramalho et al., 1997; Ramalho et al., 1999; Da Matta et al., 1999).

As informações obtidas das determinações da área e da massa seca foliar aos 180 e 240 DAE se apresentam na Tabela 6 e na Figura 15.

Tabela 6. Área (dm^2) e massa seca (g) foliar aos 180 e 240 DAE nas mudas obtidas com os diferentes tratamentos (substratos).
(vc= vermicomposto, co= composto, +FMA = inoculação, amc= adubação mineral completa, s= solo, 1/4 e 1/8 = proporções fonte de matéria orgânica: solo).

Tratamentos	Área foliar		Massa seca foliar	
	180 DAE	240 DAE	180 DAE	240 DAE
vc 1/4 +FMA	2,25	12,90 a	1,33 bc	29,46 a
vc 1/4	1,98	11,02 b	1,50 a	27,51 ab
vc 1/8 +FMA	2,15	12,56 a	1,12 d	28,61 ab
vc 1/8	2,12	10,19 bc	1,39 b	25,95 ab
amc	2,11	9,25 c	1,24 c	23,98 bc
s	1,90	6,40 d	1,10 d	18,07 c
C.V. %	8,04	6,56	4,49	10,54

Letras distintas indicam diferença estatística na comparação das médias (teste Tukey para $p < 0,05$).

Os dados contidos na Tabela 6 demonstram que no intervalo final da fase de viveiro (de 180 para 240 DAE) foi maior a velocidade de produção de superfície foliar em todos os tratamentos, mas essa diferença resultou mais significativa nas mudas desenvolvidas em substratos com vermicomposto, tanto no referido à área quanto à massa seca das folhas.

Aos 240 DAE, a inoculação com o FMA induziu áreas foliares superiores às das mudas de substrato semelhante não inoculado, porém, esse comportamento não teve a mesma manifestação na massa seca foliar.

Esses resultados estão em correspondência com os conteúdos de pigmentos encontrados nessas folhas e que foram apresentados na Tabela 5.

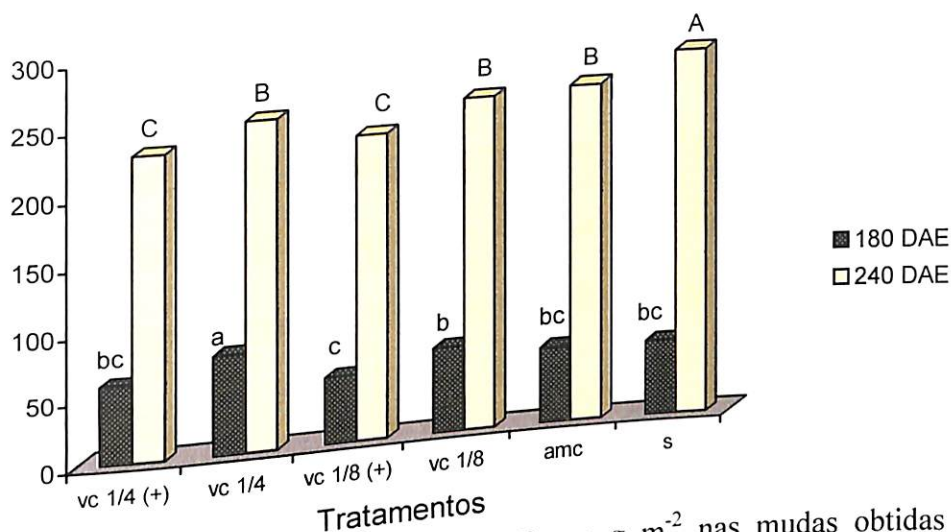


Figura 15. Massa foliar específica (MEF) em g m^{-2} nas mudas obtidas com diferentes substratos aos 180 (C.V. = 4,65 %) e aos 240 DAE (C.V. = 3,85 %). Letras distintas (minúsculas aos 180 DAE e maiúsculas aos 240 DAE) indicam diferença estatística na comparação das médias (teste Tukey para $p < 0,05$). (vc= vermicomposto, co= composto, (+)= inoculação, amc= adubação mineral completa, s= solo, 1/4 e 1/8 = proporções fonte de matéria orgânica: solo).

A Figura anterior parece confirmar que mesmo desde os 180 DAE começa se manifestar o efeito estimulador que exercem o vermicomposto e o estabelecimento da simbiose com o FMA sobre a expansão foliar.

Esses resultados reforçam o expressado por Van Volkenburgh (1999) no sentido de que a expansão foliar está condicionada em parte pelas condições ambientais (incluindo as nutricionais), e que constitui uma manifestação integradora dos processos que acontecem a nível celular.

Por um outro lado, também indicam que a MFE não é apenas um quociente ou relação entre duas variáveis do crescimento vegetal, e que tem um significado fisiológico. Vale lembrar, para argumentar essa afirmação, que os valores da MFE, quando associados com o conteúdo de pigmentos fotossintéticos e de carboidratos foliares como foi realizado

no experimento, permitem interpretá-los como uma resposta da planta para garantir melhor aproveitamento da radiação solar incidente.

Os conteúdos de carbono orgânico prontamente oxidável (CPO) e de fósforo extraível em meio ácido forte diluído (Pemaf) nos substratos, foram avaliados em dois momentos durante o experimento. Os resultados obtidos de ambos os indicadores são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Conteúdo de carbono prontamente oxidável (CPO) em g de C kg⁻¹ e P extraível em meio ácido forte diluído (Pemaf) em mg kg⁻¹ nos substratos aos 180 e 240 DAE. (vc= vermicomposto, co= composto, +FMA= inoculação, amc= adubação mineral completa, s= solo, 1 / 4 e 1/8 = proporções fonte de matéria orgânica: solo).

Tratamento	180 DAE		240 DAE	
	CPO	Pemaf	CPO	Pemaf
vc 1 / 4 + FMA	34,43 a	55,90 b	31,66 a	31,64 b
vc 1 / 4	31,67 a	63,63 b	30,20 a	35,17 b
vc 1 / 8 + FMA	19,27 bc	26,07 cd	18,76 bc	12,99 cd
vc 1 / 8	21,37 b	35,27 c	21,23 b	19,10 c
amc	20,40 b	80,55 a	19,17 b	52,86 a
s	14,03 c	18,01 d	13,33 c	9,10 d
C.V. (%)	10,76	11,44	11,04	10,82

Letras distintas indicam diferenças estatísticas significativas entre médias (teste Tukey para $p < 0,05$).

A Tabela 7 sugere algumas reflexões interessantes tanto para o CPO como para Pemaf, que serão expostas a seguir.

Quanto ao CPO os resultados obtidos indicaram que a inoculação com FMA não induziu diferenças na diminuição gradual que experimentou esse indicador ao longo da fase de viveiro, quando comparados com os substratos não inoculados.

Segundo Siquiera & Klauberg Filho (2000) ainda não estão resolvidas muitas interrogações sobre a fisiologia dessa simbiose, mas vários trabalhos publicados (e os próprios resultados expostos até aqui) confirmam que no estabelecimento da associação benéfica fungo-hospedeiro, a planta experimenta transformações significativas no padrão de distribuição de carboidratos (Schellenbaum et al., 1999; Muller et al., 1999), desenvolve mecanismo de resposta às altas concentrações de CO₂ (Touche-Tessandier et al., 1999; Rillig & Allen, 1999), e às condições adversas de disponibilidade de N, P e K (Hadley et al., 1999; Chen et al., 1999; George et al., 1998), porém, está claro que os FMA não empregam, como fonte de energia para seu desenvolvimento, estruturas carbonadas do meio externo (Pfeffer et al., 1999).

Quanto ao Pemaf resulta obvio que no tratamento com adubação completa (amc) apresentam-se valores muito superiores do que nos demais tratamentos e que apareceram diferenças entre as doses do vermicomposto.

Mesmo sem demonstrar diferenças estatísticas segundo o teste de comparação de médias aplicado, os conteúdos de Pemaf aos 240 DAE sugerem, especialmente na dose menor de vermicomposto, que esteja se manifestando efeito da inoculação, facilitando uma maior extração do P presente no substrato.

As interpretações realizadas ficariam incompletas se não for feita uma avaliação, embora simples e preliminar, da eficiência no uso do P extraído do substrato, integrando as informações disponíveis sobre área e massa seca foliar, e extração de fósforo.

Segundo Araújo (2000) é possível avaliar a eficiência da utilização do fósforo por relações entre o acréscimo da biomassa vegetal e os conteúdos do elemento.

Se tomados como referências tanto as variações na massa seca foliar como na área foliar entre os 180 e 240 DAE, e relacionados com a extração de fósforo feita pelas mudas (diferença entre Pemaf aos 240 e 180 DAE) nesse intervalo de tempo, é possível comprovar que a incorporação do vermicomposto e a inoculação favoreceram a utilização do P absorvido. No tratamento "amc" cada mg de P absorvido representou 25,8 cm² de área foliar e 0,82 g de massa seca foliar. Nos tratamentos com vermicomposto esses indicadores oscilaram entre 31,8 e 79,6 cm² de área foliar e 0,91 e 2,1 g de massa seca foliar.

Em função das informações gerais obtidas nesse experimento, parece ficar demonstrado que poderiam se obter mudas de café de boa qualidade (determinada pelos indicadores bioquímico-fisiológicos avaliados) com mínimo uso de fertilizante mineral, utilizando um substrato que inclua solo, vermicomposto e inoculação com FMA numa proporção adequada.

4.2.c. Experimento V. Efeitos de duas doses de vermicomposto e *Glomus clarum* na obtenção de mudas de café.

Os resultados da avaliação da massa seca foliar nas mudas obtidas nos diferentes tratamentos, 180 após emissão do primeiro par de foliar verdadeiras (DAE) se representam na Tabela 8.

Segundo esses resultados se evidenciam efeitos benéficos da dose de vermicomposto utilizada na preparação do substrato e da inoculação com FMA para os tratamentos onde foi incorporada essa fonte de matéria orgânica.

Tabela 8. Indicadores do conteúdo de massa seca foliar nas mudas aos 180 DAE.
 MSFM = massa seca da folha média; MSFT = massa seca foliar total
 MFE = massa seca foliar específica; 1/3 e 1/5 = proporções
 vermicomposto: solo; +FMA = inoculação; S = solo

Tratamento	MSFM (mg)	MSFT (g)	MFE (g m ⁻²)
1 / 3 + FMA	176,8 b	2,47 b	62,51 c
1 / 3	206,1 a	2,88 a	75,43 b
1 / 5 + FMA	156,6 c	2,08 c	58,72 c
1 / 5	163,4 bc	2,29 bc	72,15 b
S + FMA	84,3 d	1,18 d	89,46 a
S	87,4 d	1,22 d	91,30 a
C.V. (%)	10,2	9,79	8,91

Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias de acordo com o teste Tukey para $p < 0,05$.

Embora o experimento tenha sido realizado com diferente tipo de solo, fungo, vermicomposto e variedade de planta, e por isso os valores obtidos apresentam algumas diferenças em relação ao anterior, foram ratificados os comportamentos gerais dos efeitos do uso combinado dessa fonte de matéria orgânica e a inoculação com FMA. Também a informação da Tabela 9 consolida as interpretações amplamente expostas no experimento anterior.

Tabela 9. Conteúdo foliar de pigmentos fotossintéticos e formas de fósforo nas mudas aos 180 DAE.
 (cl a + b = clorofila "a" + clorofila "b"; Pi = fósforo inorgânico
 Pfit = fósforo acumulado como fitina)

Tratamento	cl a + b (g kg ⁻¹)	Pi (mmol kg ⁻¹)	Pfit (mmol kg ⁻¹)
1 / 3 + FMA	5,620 a	62,57 a	58,55 bc
1 / 3	5,546 a	55,44 b	82,10 a
1 / 5 + FMA	4,530 b	58,98 ab	54,25 cd
1 / 5	4,081 b	57,85 b	86,15 a
S + FMA	3,521 c	59,97 a	48,29 d
S	3,453 c	62,25 a	61,27 b
C.V. (%)	10,21	7,45	6,15

Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre as médias.
 Teste Tukey para $p < 0,05$

4.3.a. Experimento VI. Influência dos ácidos húmicos do vermicomposto sobre o crescimento do sistema radicular.

Os resultados da medição da área e o comprimento das raízes das plântulas de milho, após sete dias de interação com diferentes concentrações de humato se apresentam nas Figuras seguintes.

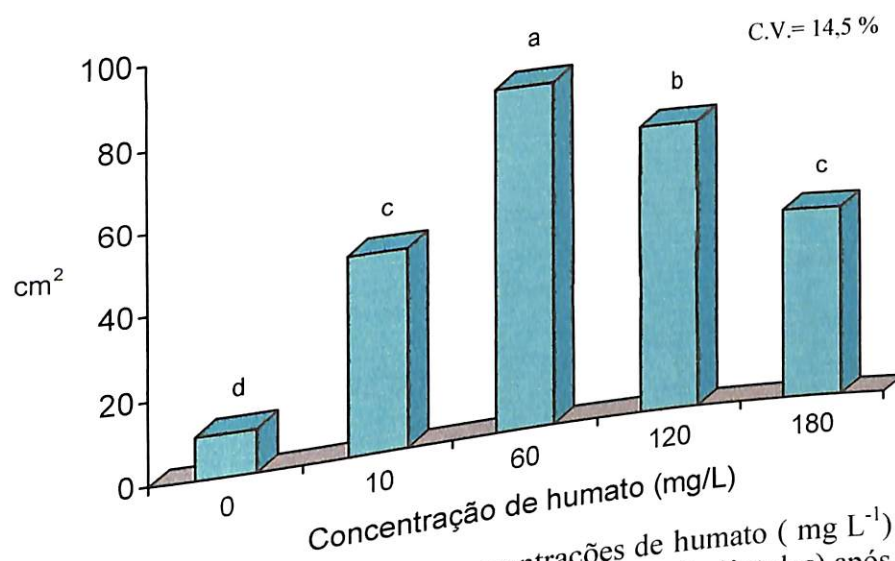


Figura 16. Efeito de diferentes concentrações de humato (mg L^{-1}) sobre a área radicular (cm^2) das plântulas de milho (média de 10 plântulas) após sete dias. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias (teste Tukey para $p < 0,05$)

Esses resultados evidenciam que o efeito dos ácidos húmicos apresentou uma feição semelhante à dos fitohormônios. Alguns autores têm atribuído atividade equivalente às auxinas para ácidos húmicos extraídos do solo (Muscolo & Sidari, 1998; Nardi et al., 1999; Muscolo et al., 1999).

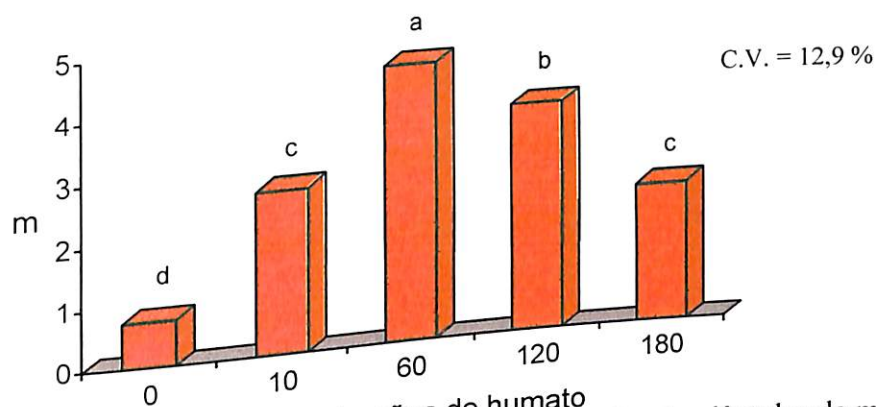


Figura 17. Comprimento (m) do sistema radicular de plântulas de milho após sete dias de submetidas a tratamentos com diferentes concentrações (mg L⁻¹) de humato. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre médias (teste Tukey para $p < 0,05$)

Tendo em consideração a faixa de concentrações onde foi mais expressivo o efeito dos ácidos húmicos do vermicomposto sobre o desenvolvimento do sistema radicular das plântulas de milho, plântulas de *Coffea arabica* L. var. Catuaí vermelho foram utilizadas para um experimento equivalente e os resultados obtidos aparecem a seguir.

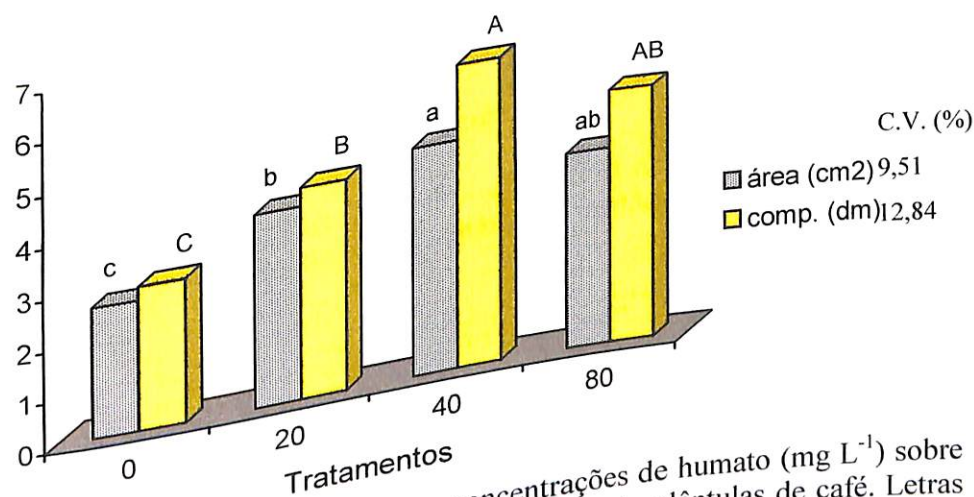


Figura 18. Efeitos de diferentes concentrações de humato (mg L⁻¹) sobre a área (cm²) e o comprimento (dm) de raízes de plântulas de café. Letras diferentes (minúsculas para área e maiúsculas para comprimento) indicam diferenças estatísticas entre as médias (teste Tukey para $p < 0,05$).

Também no caso das plântulas de café o efeito das diferentes concentrações de humato sobre o desenvolvimento do sistema radicular, teve um comportamento semelhante às auxinas, e o valor mais significativo, tanto para a área quanto para o comprimento, foi menor do que nas plântulas de milho.

Os cálculos feitos do diâmetro médio das raízes não indicaram diferenças entre os tratamentos (entre 0,15 e 0,17 mm), o que leva a pensar (junto com as tendências demonstradas pela área e pelo comprimento das raízes) que o efeito consistiu fundamentalmente numa estimulação direta da expansão do tecido radicular.

Para tentar confirmar essa hipótese foi avaliada a possível influência dos ácidos húmicos sobre a atividade da H^+ -ATPase.

4.3.b. Experimento VII. Influência dos ácidos húmicos do vermicomposto sobre a atividade hidrolítica de ATP nas raízes.

Na avaliação da atividade hidrolítica de ATP de vesículas de raízes de plântulas de milho que estiveram em contato ou não com uma solução de 40 mg L⁻¹ de humato, foram

obtidos os resultados que aparecem na Tabela seguinte.

Tabela 10. Atividade hidrolítica de ATP ($\mu\text{mol de Pi h}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de ATP) sensível a vanadato em membranas plasmáticas extraídas de raízes de plântulas de milho.

Tratamento	nmol de Pi min ⁻¹ mg ⁻¹	Porcentagem relativa
Controle	2,413 b	100
40 mg L ⁻¹ de humato	3,340 a	138

Letras diferentes indicam diferença estatística entre as médias segundo teste t para $p < 0,05$

Como demonstrado pela quantidade de Pi detectada (em relação às plântulas inibidas com vanadato), o tratamento com AH extraídos do vermicomposto induziu maior atividade de hidrólise do ATP.

Muscolo et al. (1999) comprovaram, trabalhando com células de *Daucus carota*, que ácidos húmicos de baixa massa molar, em concentração de 200 $\mu\text{g de C L}^{-1}$, que foram extraídos de um vermicomposto, estimularam o crescimento celular de maneira semelhante ao ácido indolacético (AIA). Também encontraram que células tratadas tanto com AH quanto com derivados do AIA, apresentaram o mesmo polimorfismo isoenzimático para GDH e MDH.

Nardi et al. (1999) extraíram AH de solos com diferente cobertura e encontraram que quando aplicados a mudas de *Pinus sylvestris*, todos induziram um padrão eletroforetico de estearase semelhante ao induzido pelo AIA.

Pinton et al. (1999) detectaram que a fração de AH solúvel em água estimulou a absorção de nitratos e a atividade da H^{+} -ATPase. Esses autores sugeriram que o efeito dos AH sobre a H^{+} -ATPase poderia ser um dos sinais primários da ação das substâncias húmicas na absorção de nutrientes pelas plantas.

Os resultados obtidos no ensaio equivalente feito com plântulas de café de 15, 30 e 75 dias (após emissão do primeiro par de folhas verdadeiras, DAE) aparecem na Tabela a seguir.

Tabela 11 . Atividade hidrolítica de ATP ($\mu\text{mol de Pi min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de ATP) sensível a vanadato em membranas plasmáticas extraídas de raízes de plântulas de café aos 15, 30 e 75 DAE.

Tratamento	15	30	75
Controle	0,58 Ab	0,28 Bb	0,29 Bb
40 mg L ⁻¹ de humato	1,05 Aa	0,40 Ba	0,39 Ba

Letras diferentes indicam diferença estatística entre médias segundo teste de t para $p < 0,05$ (letras minúsculas para a comparação entre tratamentos e maiúsculas para idades).

De acordo com a Tabela anterior foi evidente o efeito estimulador dos AH do vermicomposto independentemente da idade da plântula. Os resultados também apontam para a diminuição da intensidade na atividade de hidrólise do ATP nas raízes segundo avança seu desenvolvimento. Nessa segunda tendência detectada provavelmente o próprio hábito de crescimento radicular do cafeeiro desempenhe o papel fundamental.

Os resultados expostos até aqui oferecem claras evidências de efeitos fisiológicos diretos dos AH sobre o desenvolvimento do sistema radicular nas plântulas estudadas. Isso reforça a idéia sugerida no experimento inicial com mudas de café obtidas a partir de quatro fontes de matéria orgânica, sobre a necessidade de não ter apenas em conta a composição quantitativa (mineral ou de C orgânico) das fontes, no momento de interpretar as diferenças que apresentaram as mudas produzidas. Fontes com conteúdos semelhantes de C orgânico total, podem ter efeitos muito diferentes sobre o desenvolvimento de diversas culturas, desde que a distribuição desse carbono nas frações humificada e não humificada, apresente diferenças importantes tanto quantitativa como qualitativamente.

4.4. Experimento VIII. Caracterização parcial dos ácidos húmicos extraídos do vermicomposto.

O espectro UV-Vis dos ácidos húmicos (AH) do vermicomposto (Figura 19) apresentou uma diminuição contínua da absorvância a partir do máximo de absorção em 222 nm. Apareceram também outras duas absorções menos definidas em 287 e 330 nm. Essa feição geral do espectro e as posições (comprimentos de ondas) do máximo e dos ombros confirmam a existência de grupamentos aromáticos (alguns deles muito substituídos) na estrutura dos AH.

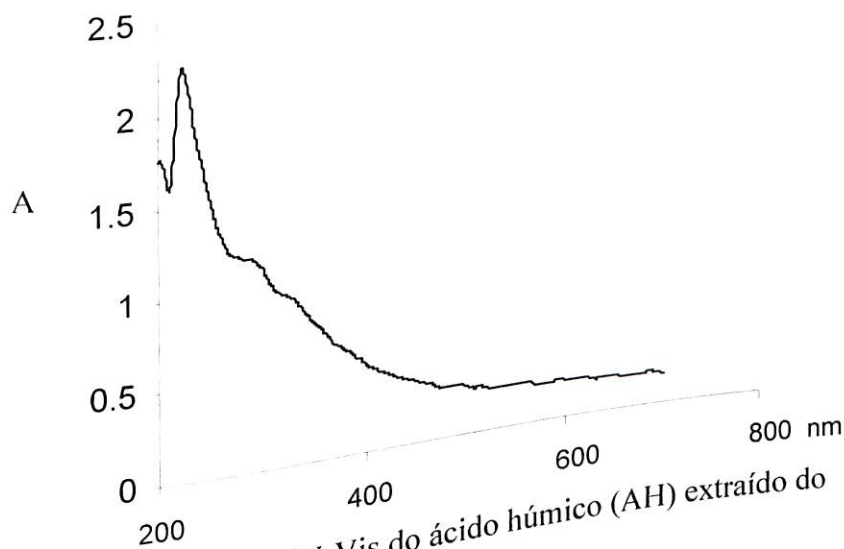


Figura 19. Espectro UV-Vis do ácido húmico (AH) extraído do vermicomposto.

O valor da relação E_4/E_6 , calculada de acordo com o espectro anterior, foi de 5,5 o que se encontra próximo dos dados reportados por Ruiz (1996) para AH extraídos de cinco tipos diferentes de vermicompostos.

As atribuições das principais bandas de absorção identificadas no espectro IV dos AH (Figura 20) são apresentadas no Quadro 5.

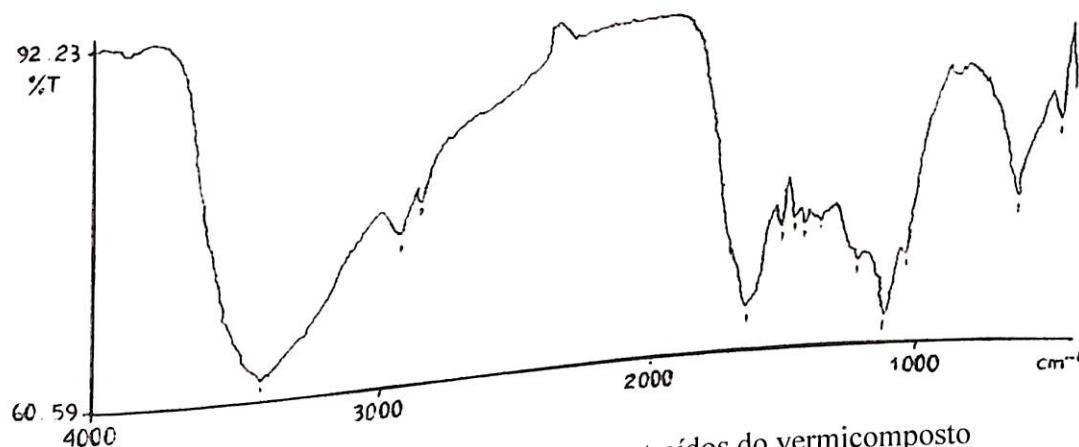


Figura 20. Espectro IV dos ácidos húmicos extraídos do vermicomposto

Quadro 5. Atribuições das bandas de absorção (em cm^{-1}) mais significativas do espectro IV dos AH extraídos do vermicomposto.

Banda (cm^{-1}) e características	Atribuições prováveis
3419 (forte e larga)	Estiramento de grupamentos O-H
2926 (forte)	Estiramento assimétrico de C-H em CH_3
2862 (muito fraca)	Estiramento assimétrico de C-H em CH_2
1705 (muito fraca)	Estiramento de C=O em CO_2H
1636 (muito forte)	Estiramento de C=O de quinonas, cetonas conjugadas e carboxilatos
1510 (muito fraca)	Estiramento assimétrico de COO^- e Estiramento simétrico de C=C aromático
1456 (muito fraca)	Deformação de C-H de grupamentos alifáticos
1420 (muito fraca)	Deformação de O-H, Estiramento de O-H em fenóis
1221 (muito forte)	Estiramento C-O, deformação de O-H em CO_2H , Estiramento C-O de éteres aromáticos
1122 (muito fraca)	Estiramento C-O de polissacarídeos
617 (muito forte)	Deformação de C-H de grupamentos aromáticos

Em geral os grupamentos funcionais detectados a partir do espectro IV dos AH são semelhantes aos reportados por Garcés (1987) e Canellas (1999) para AH naturais do solo, e por Ruiz (1996) e Landgraf et al. (1999) para AH de outros vermicompostos.

A caracterização estrutural parcial derivada das informações dos espectros UV-Vis e IV exposta até aqui, foi corroborada pela interpretação dos sinais (deslocamentos em função do tetrametilsilano) principais que foram detectadas no espectro RMN de ^{13}C dos AH (Figura 21) como apresentado no Quadro 6.

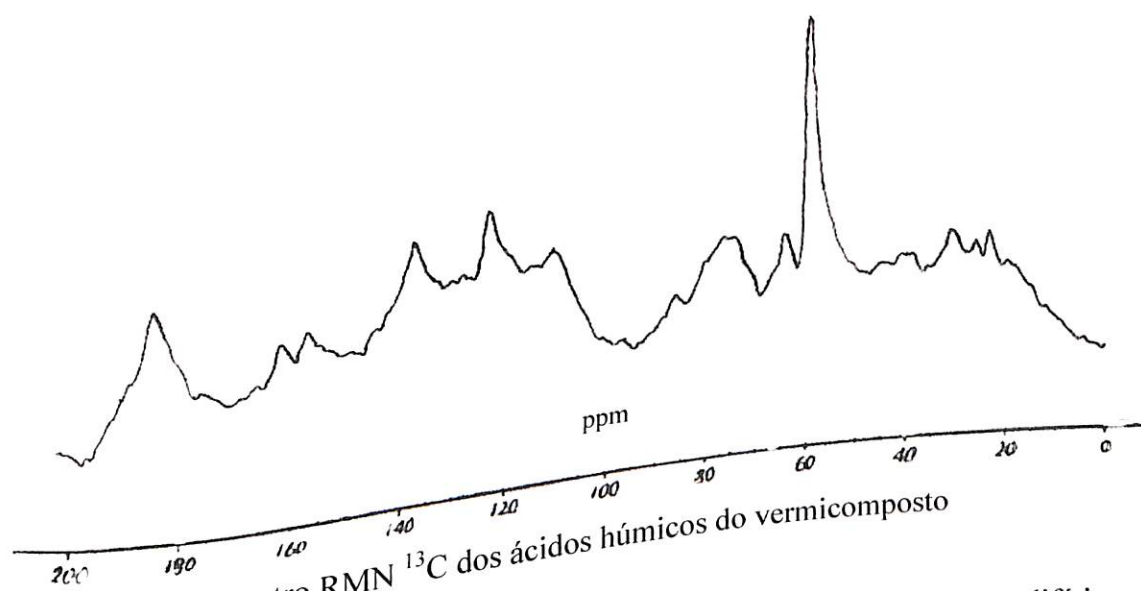


Figura 21. Espectro RMN ^{13}C dos ácidos húmicos do vermicomposto

Quando integradas as áreas juntando os sinais segundo a atribuição, em C alifáticos e aromáticos, os cálculos indicaram que os AH do vermicomposto possuem uma estrutura com 49,0 % de C alifáticos e 49,3 % de C aromáticos. Isso se corresponde com um grau de aromaticidade de 50,15 %, o que fica um pouco por baixo da faixa de valores encontrada para AH do solos perturbados pela atividade humana (Chukov, 2000).

Quadro 6. Atribuições dos principais sinais (δ_c) do espectro RMN ^{13}C dos AH do vermicomposto.

δ_c	Atribuição
0-20	C sp^3 de grupamentos CH_3
20-48	C sp^3 em CH_2 , CH e C quaternário alifático
50-110	C sp^3 ligado a N e oxigênio
110-140	C sp^2 de estruturas aromáticas
140-160	C sp^2 ligado a O em estruturas aromáticas
160-185	C sp^2 de grupamentos carboxílicos e carbonílicos

Considerando a semelhança encontrada com os AH naturais do solo, quanto aos tipos de grupamentos funcionais que compõem a estrutura dos AH do vermicomposto, deve-se inferir que podem exercer efeitos fisiológicos também semelhantes aos já descritos nos experimentos anteriores.

Os resultados da determinação quantitativa dos grupamentos funcionais ácidos, do umbral de coagulação e da distribuição do carbono nas substâncias húmicas extraídas do vermicomposto se apresentam na Tabela 12.

A análise integral da informação contida na Tabela apresenta algumas diferenças em relação à caracterização desses indicadores feita por Ruiz (1996) para AH de cinco diferentes tipos de vermicomposto, que incluíam alguns obtidos também a partir de esterco de gado.

Tabela 12. Indicadores quantitativos dos principais grupamentos e da distribuição do carbono nos AH extraídos do vermicomposto.

Indicador	Valor
Grupamento -COOH (mol kg^{-1} de AH)	174
Grupamento -OH fenólico (mol kg^{-1} de AH)	1093
Grupamento -NH_2 (mol de N kg^{-1} de AH)	6,87
Umbra! de coagulação ($\text{nmol}_{(+)} \text{L}^{-1}$)	78
% de C em AH	1,53
Relação AH/AF	0,29

Os valores encontrados para o umbra! de coagulação e o conteúdo de N em grupamentos NH_2 sugerem que os AH do vermicomposto estudado têm maior hidrofilicidade do que aqueles caracterizados por Ruiz (1996). A incorporação de resíduos de leguminosas durante o processo de vermicompostagem poderia ser a causa dessa diferença.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos e para as condições em que foram desenvolvidos os experimentos apresentados nesse trabalho é possível enunciar as conclusões gerais seguintes:

- Ficou demonstrado que plantas adultas de *Coffea arabica* L., independentemente das quantidades e fontes de adubação fosfática empregadas, apresentam uma distribuição do fósforo foliar nas formas metabolicamente ativas que foram avaliadas, que foi específica de cada uma das etapas fisiológicas analisadas. O conteúdo de P total foliar obtido pela digestão ácida não reflete de maneira eficiente as importantes transformações que experimenta o metabolismo do fósforo em etapas fisiológicas diferentes.
- O uso de fontes alternativas de matéria orgânica como o vermicomposto, combinadas com a inoculação com FMA, permite obter substratos eficientes para produzir mudas de café que apresentam indicadores morfológicos e fisiológicos semelhantes às mudas obtidas com adubação mineral completa. A inoculação dos substratos com FMA, diminuiu o conteúdo foliar de carboidratos redutores, a massa

foliar específica e o conteúdo e distribuição dos principais pigmentos fotossintéticos foliares das mudas. Isso último se reporta pela primeira para essa cultura.

- Foi comprovado que os ácidos húmicos provenientes do vermicomposto estudado apresentam características estruturais semelhantes aos AH naturais do solo e exercem efeitos fisiológicos diretos, a nível de membrana, que favorecem o desenvolvimento do sistema radicular de mudas de café. Esses efeitos descritos e quantificados constituem evidências científicas não reportadas anteriormente para essa cultura.

A informação acumulada gerou novas interrogações e por isso a necessidade de enunciar as recomendações seguintes:

- Novos experimentos terão que ser desenvolvidos, de preferência em solos com grande deficiência de fósforo, visando estabelecer qual o melhor indicador do estado metabólico foliar desse elemento. Nestes experimentos é preciso incluir a etapa de crescimento vegetativo após o transplante e fase de recuperação da plantação depois da coleta. Assim o produtor teria uma margem de tempo maior, para aplicar, com suficiente antecedência, as medidas ou procedimentos tecnológicos que possam garantir a correção de qualquer distúrbio metabólico que esteja se manifestando na plantação.
- A otimização da composição de substratos para obter mudas de café deverá continuar sendo objeto de pesquisa.
- Ainda é preciso continuar desenvolvendo pesquisas para melhor compreender os mecanismos envolvidos no efeito detectado dos ácidos húmicos sobre o crescimento do sistema radicular do cafeeiro e a atividade da ATPase. Provavelmente seja

necessário re-analisar a estrutura dos ácidos húmicos após a interação com o sistema radicular, para verificar se acontece qualquer alteração nos grupamentos funcionais que os caracterizavam previamente. Também valeria a pena avaliar, antes e depois da interação planta-ácido húmico, a atividade e o polimorfismo das isoenzimas contidas no sistema radicular das plantas de café, potencialmente capazes de provocar ruptura de ligações chaves na estrutura dos ácidos húmicos. Ainda nesse sentido poderia ser considerado como objeto de estudo futuro a determinação dos potenciais de membrana em raízes tratadas e não tratadas com ácidos húmicos.

- Possíveis efeitos de ácidos húmicos sobre a atividade dos sistemas enzimáticos relacionados com a absorção radicular do nitrogênio deverão ser testados experimentalmente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILERA L.I., RAMIREZ P., FRIAS J.T., et al. Influence of *Glomus fasciculatum* on physiology and growth of three kinds of maize. **Phyton-International Journal of Experimental Botany**, Vicente Lopez, v. 62, n 1-2, p 101-107, 1999
- ARAÚJO, A.P. Eficiência vegetal de absorção e utilização de fosforo, com especial referência ao feijoeiro. In : NOVAIS, R.F., ALVAREZ, V.H.V., SCHAEFER, C.E.G.R. (Eds). **Tópicos em Ciência do Solo**, Voçõsa, MG : Sociedade Brasileira de ciência do Solo, 2000. 352 p., p.163-212
- AZCON-AGUILAR, C., BAREA, J.M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: Significance and potentials. **Scientia Horticulture**, Amsterdam, v. 68, n. 1-4, p. 1-24, mar. 1997.
- BAUER, T., BLECHSCHMIDTSCHNEIDER, S., ESCHRICH, W. Regulation of photoassimilate allocation in *Pinus-silvestris* seedlingby the nutritional-status of the mycorrhizal fungus *suillus-variegatus*. **Trees-structure and function**, New York, v. 5, n. 1, p. 36-43, 1991
- BELANGER, G., RICHARDS, J.E. Relationship between P and N concentrations in timothy. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 79, n. 1, p. 65-70, jan, 1999

- BELIMOV A.A., SEREBRENNIKOVA, N.V. STEPANOV, V.V. Interaction of associative bacteria and endomycorrhizal fungus with barley upon dual inoculation. **Microbiology**, New York, v.68, n. 1, p 104-108, Jan-Feb, 1999
- BERBARA, R.L.L., FONSECA, H.M.A.C. Colonização radicular e esporulação de fungos micorrízicos arbusculares *in vitro*. In: SIQUEIRA, J. O. (Ed) **Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas**, Lavras: UFLA, 1996. 290 p. p. 39-66
- BETHLENFALVAY G.J. , CANTRELL I.C., MICHARA, K.L., et al. Relationship between soil aggregation and mycorrhizae as influenced by soil biota and nitrogen nutrition. **Biology and Fertility of Soil**, New York, v. 28, n. 4, p 356-263, Feb. 1999
- BRANDÃO, E.M. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N., NEVES, M.C.P. (Eds.). **Microbiologia do Solo**. Campinas, SP: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 1992. 360 p. p. 1-16
- CAMARGO, F. A.O., SANTOS, G. A., GUERRA, J.G.M. Macromoléculas e substâncias húmicas. In: SANTOS, G.A., CAMARGO, F.A.O. (Eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. 508p. p 27-36.
- CANELLAS, L.P. **Avaliação de características físico-químicas de ácidos húmicos**. Seropédica, 1999. 164 f., Tese (Doutorado em Ciência do Solo) Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1999
- CANELLAS , L.P., SANTOS, G.A., RUMJANEK, V.M., et al. Aplicación de la espectroscopia RMN de ^{13}C en la caracterización de la materia orgánica del suelo. **Educación Química**, Chapingo, v. 2, p. 17-23, mar.-abr., 1999.

- CHAPIN, F.S., BIELESKI, R.L. Mild phosphorus stress in barley and related low-phosphorus-adapted barleygrass: Phosphorus fractions and phosphate absorption in relation to growth. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 54, p. 309-317, 1982.
- CHAUHAN, D.R., PARODA, S., KATARIA, O.P., SINGH, K.P. Response of indian mustard (*Brassica juncea*) to biofertilizers and nitrogen. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v. 40, n. 1, p. 86-90, mar. 1995 a.
- CHAUHAN, D.R., PARODA, S., SINGH, K.P. Effect of biofertilizers, gypsum and nitrogen on growth and yield of raya (*Brassica juncea*). **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v. 40, n. 4, p. 639-642, dec. 1995 b.
- CHEN, Y., SENESI, N., SCHNITZER, M. Information provide on humic substances by E₄/E₆ ratio. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 41, p. 352-358, 1977.
- CHUKOV, S.N. Study by ¹³C NMR spectroscopy of humic acids and molecular parameters in anthropogenically disturbed soils. In: **International Meeting of the International Humic Substances Society 10**, 2000, Toulouse. Proceedings... Toulouse: International Humic Substances Society, 2000. v. 2, p. 81-84
- COLE, L., BARDETT, R.D., INESON, P. Enchytraeis worms (Oligochaeta) enhance mineralization of carbon in organic upland soils. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 51, n. 2, p. 185-192, jun. 2000.
- COSTANTINI, A.O., SEGAT, A.M.L. Seasonal changes in the microbial biomass of Brazilian soils with different organic matter contents. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 25, n. 17/18, p. 3057-3068, 1994.
- COSTANTINI, A., SEGAT, A., COSENTINO, D. The effect of different soil management procedures on carbon cycle components in an Entic Hapludoll.

- Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.26, n. 17/18, p. 2761-2767, 1995.
- CUENCA G., MENESES E. Diversity patterns of arbuscular mycorrhizal fungi associated with cacao in Venezuela. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 183, n. 2, p 315-322. 1996
- DA MATTA, F.M., MAESTRI, M. Photoinhibition nad recovery of photosynthesis in *Coffea arabica* and *C-canephora*. **Photosynthetica**, Praga, v. 34, n. 3, p. 439-446, 1997.
- DA MATTA, F.M., MAESTRI, M., BARROS, R.S. Photosynthetic performance of two coffee specie under drought. . **Photosynthetica**, Praga, v. 34, n. 2, p. p. 257-264, 1997 a.
- DA MATTA, F.M., MAESTRI, M., MOSQUIM, P.R., BARROS, R.S. Photosynthesis in coffee (*Coffea arabica* and *C-canephora*) as affected by winter and sommer conditions. **Plant Science**, Clare, v. 128, n. 1, p. 43- 50, sep. 1997 b.
- DA MATTA, F.M., DO AMARAL, J.A.T., RENA, A.B. Growth periodicity in trees of *Coffea arabica* L. in relation to nitrogen supply and nitrate reductase activity. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 60, n. 3, p. 223-229, feb. 1999.
- DAYAL, D., AGARWAL, S.K. Response of sunflower (*Helianthus annus*) to organic manures and fertilizers. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v. 43, n. 3, p. 469-473, sep., 1998
- DE ALMEIDA, A.A.F., MAESTRI, M. Characteristic of slow chlorophyll fluorescence emission in four *Coffea arabica* genotypes submitted to water stress. **Photosynthetica**, Praga, v. 32, n. 2, p. 161-169, 1996.

DE MICHELIS, M.I., SPANSWICK, R.M. H^+ -pumping driven by vanadate sensitive ATPase in membrane vesicles from corn roots. **Plant Physiology**, Rockville, v. 81, p. 542-547, 1986

DOSSKEY, M.G. ; BOERSMA, L., LINDERMAN, R.G. Role for the photosynthate demand of ectomycorrhizas in response of Douglas-fir seedlings to drying soil, **New Phytologist**, New York, v. 117, n. 2, p. 327-334, feb, 1991

DRUGE, U., SCHONBECK, F. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on transpiration, photosynthesis and growth of flax (*Linum-usitatissimum* L) in relation to cytokinin levels. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v.141, n. 1, p.40-48, jan, 1993

ECHENAGUSIA, A., HUELVA, R., GARCÉS, N., et al. Influencia de un extracto de vermicompost sobre indicadores de crecimiento en vitroplantas de plátano (*Musa ssp.*) como substitutivo del IAI y 6-BAP en los medios de cultivo. In: **CONGRESO LATINOAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO**, 14., 1999, Temuco. Anais Temuco: Universidad de la Frontera, 1999. 4 p. (CD-ROM)

EBDON, J.S., PETROVIC, A.M., WHITE, R.A. Interaction of nitrogen, phosphorus and potassium on evapotranspiration rate and growth of Kentucky bluegrass. **Crop Science**, Madison, v.39, n. 1, p. 209-218, jan-fev, 1999.

ELLIOT, G.C., LAÜCHLI, A. Phosphorus efficiency and phosphate-iron interaction in maize. **Agronomy Journal**, Madison, v. 77, p. 399-403, 1985.

ESPINDOLA, J.A.A., ALMEIDA, D.L., GUERRA, J.G.M., et al. Influência da adubação verde na colonização micorrízica e na produção da batata-doce. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 339-347, mar. 1999.

- FAGBENRO, J.A., AGBOOLA, A.A. Effect of different levels of humic acid on the growth and nutrient uptake of teak seedling. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 16, n. 8, p. 1465-1483, 1993.
- FAHL, JI, CARELLE, M.L.C., VEGA, J., et al. Nitrogen and irradiance levels affecting net photosynthesis and growth of coffee plants. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 69, n. 1, p. 161-169, jan. 1994.
- FERNÁNDEZ, J., COLLAZO, E., CORTES, S., MARTIN, J. **Cultivo del cafeto**. La Habana : ENPES, 1988. 619 p.
- FILCHEVA, E., NOUSTOROVA, M., GENTCHEVA-KOSTADINOVA, S., et al.. Organic accumulation and microbial action in surface coal-mine spoils, Pernik, Bulgaria. **Ecological Engineering**, Amsterdam, v. 15, p. 1-15, 2000.
- FLIESBACH, A., MADER, P. Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 6, p. 757-768, jun. 2000.
- FOYER, C., SPENCER, C. The relationship between phosphate status and photosynthesis in leaves. Effects on intracellular orthophosphate distribution, photosynthesis and assimilate partitioning. **Planta**, New York, v. 167, p. 369-375, 1986.
- FUNAKAWA, S., TANAKA, S., SHINJYO, H., et al. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 43, n. 3, p. 681-693, sep. 1997.
- GAMA-RODRIGUES, E.F. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G.A., CAMARGO, F.A.O. (Eds.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. 508 p. p. 227-239.

- GARCÉS, N. **Características actuales del humus en los principales tipos de suelo de Cuba**. Nitra, 1987. 200 f. Tesis (Doctorado en Ciencias Agrícolas) Facultad de Agronomía. Universidad de Agricultura de Nitra, 1987
- GOPALASWAMY, G., RAJ, S.A., RANGANATHAN, T.B. Biofertilizer application strategy to rice (*Oriza sativa*). **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v. 442, n. 1, p. 68-73, mar. 1997.
- GRASS, G., FERNANDEZ, F. Efectos de la aplicación de cachaza y Biofertilizantes sobre hortalizas cultivadas en sustrato de zeolita. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 14, n 2-3, 1993.
- GUERRA, J.G.M., FONSECA, M.C., ALMEIDA, D.L, et al. Conteúdo de fósforo da biomassa microbiana de um solo cultivado com *Brachiaria decumbens* stapf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 543-551, abr. 1995.
- GURIDI, F., CANELLAS, L.P., SANTOS, G.A. Efeitos fisiológicos de extratos de duas fontes de matéria orgânica. In: **ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**, 3., 1999, Santa Maria. Anais.... Santa Maria: UFSM, 1999 400p. p. 242-243.
- GURIDI, F. **Influencia del fósforo, dos fuentes de matéria orgânica y la micorriza sobre indicadores morfológicos y bioquímico-fisiológicos em cafetos jóvenes**, La Habana, 1996. 50 f. Tesis (Master Science en Química Agrícola) Facultad de Agronomía. Universidad Agraria de la Habana, 1996.
- GURIDI, F., VENTO, H. Estudio preliminar de la influencia del fósforo em la matéria seca foliar, el crecimiento radical y la forma de distribución del elemento em las hojas de plantas de café. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 7, n. 4, p. 93-99, 1985

- GUTIERREZ-BOEM, F.H., THOMAS, G.W. Phosphorus nutrition and water deficit in field-grow soybeans. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 207, n. 1 p. 87-96, 1998
- HAIGH, M.J. Soil Stewardship On Reclaimed Coal Lands. **Land Reconstruction and Management**, Rotterdam, v.1, p.165-274, 2000.
- HALDIMAN, P. How do changes in temperature during growth affect leaf pigments composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in sensitivity to low temperature? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 133, p. 543-550, apr. 1999.
- HART, A.L., JESSOPS, D. Phosphorus fractions in trifoliolate leaves of white clover and lotus at various levels of phosphorus supply. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 26, p. 357-361, 1983.
- HAVAUX, M., TARDY, F. Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptative response of *Syrian barley* landraces to high-light and heat stress. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v. 26, n. 6, p. 569-578, 1999.
- HERNANDEZ, A.N., HERNANDEZ, A., HEYDRICH, M. Selección de rizobacterias asociadas al cultivo del maiz. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 16, n. 3, p. 5-8, 1995
- HIGA, T., KINJO, S. Effect of lactic acid fermentation bacteria on plant growth and soil humus formation. In: **INTERNATIONAL CONFERENCE KYUSEI NATURE FARMING**, 1991. Proceedings Whashington: Belstville, 1991. 175 p. p. 140-147.

HIGA, T., WIDIDANA, G.N. The concept and theories of effective microorganisms. In:

INTERNATIONAL CONFERENCE KYUSEI NATURE FARMING, 1991.

ProceedingsWashington: Belstville, 1991. 175 p. p. 118-124.

HILDEBRANT U., KALDORF, M., BORTHE, M. The zinc violet and its colonization by arbuscular fungi. **Journal of Plant Physiology**, New York, v. 154, n. 5-6, p 709-

717, Jan. 1999

HUELVA, R., GARCÉS, N., ECHENAGUSÍA, A., et al. Respuestas de vitroplantas de plátano y plántulas de tomate a extractos obtenidos a partir de vermicompost. In:

CONGRESO LATINOAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO, 14., 1999, Temuco. Anais Temuco: Universidad de la Frontera, 1999. 4 p. (CD-

ROM)

INDERJIT, K., DAKSHINI, K.M.M. Allelopathic effect of cyanobacterial inoculum on soil characteristics and cereal growth. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 75,

n. 8, p. 1267-1272, aug. 1997.

ISLAM, K.R., WEIL, R.R. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam,

v. 79, n. 1, p. 9-16, jun. 2000.

JANSA, J., GRYNDLER, M., MATUCHA, M. Comparison of the lipid profiles of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and soil saprophytic fungi. **Symbiosis**, Rehovot, v. 26, n. 3, p 247-264. 1999

JOHNSON, N.C. Response of *Salsola kali* and *Panicum virgatum* to mycorrhizal fungi, phosphorus and soil organic matter : implications for reclamation. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 35, n. 1 , p 86-94, Feb. 1998

- JONER, E.J., JAKOBSEN, I. Growth and extracellular phosphatase-activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.27, n.9, p1153-1159, Sept 1995
- JONGEN, M., FAY, P., JONES, M.B. Effects of elevated carbon dioxide and arbuscular mycorrhizal infection on *Trifolium repens*. **New Phytologist**, New York, v. 132, n. 3, p. 413-423, mar. 1996
- KABLI, .A., AL-GARNI, S.M., AL-FASSI, F.A. Efficiency of cyanobacteria from soil of Western region in the Kingdom of Saudi Arabia as biofertilizer for wheat. **Arab Gulf Journal of Scientific Research**, Riyadh, v. 15, n. 2, p. 481-503, aug. 1997.
- KALDORF, M. , KUNH, A.J., SCHRODER, W.H. et al. Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungi. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 154, n. 5-6, p 718-728, May. 1999
- LAMIN, S.S.M.; JORDÃO, C.P.; BRUNE, W., et al. Physical and chemical characterization of vermicompost from bovine manure and evaluation of competitive retention of copper and zinc. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 278-283, may-jun, 1998
- LAMIN, S.S.M.; JORDÃO, C.P.; BRUNE, W., et al. Chemical and physicochemical characterization of vermicompost from bovine manure and evaluation of competitive adsorption of cadmium and lead. **Química Nova**, São Paulo, v.19, n. 5, p. 457-463, sept-oct, 1996.
- LANDGRAF, M.D., ALVES, M.R., SILVA, S.C., et al. Caracterização de ácidos húmicos de vermicomposto de esterco bovino compostado durante 3 e 6 meses. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 4, jul/aug. 1999.

- LEIRÓS, M.C., TRASAR-CEPEDA, C., SEOANE, S., et al. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in na área of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 6, p. 733-745, jun. 2000.
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of biomembrane. **Methods in Enzymology**, New York, v. 148, p. 350-383, 1987.
- LORENZ, K., PRESTON, C.M., RASPE, S., et al. Litter decomposition and humus characteristics in Canadian and German spruce ecosystems: information from tannin analysis and ^{13}C CPMAS-NMR. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 6, p. 779-792, jun. 2000.
- LOUCHE-TESSANDIER D., SANSON G., HERNANDEZ C. , et al. Importance of light and CO_2 on the effects of endomycorrhizal colonization on growth and photosynthesis of potato platlets (*Solanum tuberosum*) in vitro tripartite system. **New Phytologist**, New York, v. 142, n.3, p 539-550, jun. 1999.
- LU, X.Q., HANNA, J.V., JOHNSON, W.D. Source indicators of humic substances : an elemental, solid state ^{13}C CP/MAS NMR and Py-GC/MS study. **Applied Geochemistry**, Oxford, v. 15, n. 7, aug. 2000.
- MAHESHWARI, S.K., SHARMA, R.K., GANGRADE, S.K. Response of palmarosa (*Cymbopogon martinii* var. motia) to biofertilizers, nitrogen and phosphorus in a shallow black soil under rainfed condition. **Indian Journal of Agronomy**, New Delhi, v. 43, n. 1, p. 175-178, mar. 1998.
- MAIRE, N., BORCARD, D., LACZKO, E., MATTHEY, W. Organic matter cycling in grassland soils of de Swiss Jura mountains: biodiversity and strategies of the lining

- communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 9, p. 1281-1293, aug. 1999.
- MARSTORP, H., GUAN, X., GONG, P. Relationship between dsDNA, chloroform labile C and ergosterol in soils of different organic matter contents and pH. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 6, p. 879-882, jun. 2000.
- MARTINS, A., SANTOS, M., SANTOS, H., et al. A ^{31}P nuclear magnetic resonance study of phosphate levels in roots of ectomycorrhizal and nonmycorrhizal plants of *Castanea sativa* Mill. **Trees-Structure and Function**, New York, v. 13, n. 3, p. 168-172, feb. 1999.
- MARTINS, C.R., DE MIRANDA J.C.C., DE MIRANDA, L.N. Contribution of native arbuscular mycorrhiza fungi in the stabishment of *Aristida setifolia* Kunth in degraded areas in the cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v 34, n. 4, p 665-674. 1999
- MARTIN-LAURENT, F. , LEE S.K., THAM F.Y. , et al. Aeroponic production of *Acacia mangium* saplings inoculated with AM fungi for reforestation in the tropics. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.122, n.3, p 190-20, Sept. 1999
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London : Academic Press, 1995, 889 p.
- MASINI, J.C., ABATE, G., LIMA , E., et al. Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic acids. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.364, n. 1-3, p.223-233, may. 1998.
- MCGRATH, D.A., COMERFORD, N.B., DURYEA, M.L. Litter dynamics and monthly fluctuations in soil phosphorus availability in an Amazonian agroforest.

- Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 131, n. 1-3, p. 167-191, jun. 2000.
- MEDINA, R., CARRAZANA, J., RODRÍGUEZ, L., et al. Influencia de tres niveles de iluminación sobre el contenido de N, P, K, Ca y Mg en *Coffea arabica* L. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 15, n. 3, p. 60-68, 1994.
- MICHELSSEN, A., QUARMBY, C., SLEEP, D., et al. Vascular plant ¹⁵N natural abundance in heath and forest tundra ecosystems is correlated with presence and type of mycorrhizal fungi in roots. **Oecologia**, New York, v. 115, n. 3, p. 406-418, jul. 1998.
- MIELNICZUK, J. Matéria orgânica e a sustentabilidade de sistemas agrícolas. In: SANTOS, G.A. & CAMARGO, F.A.O. (Eds.). **Fundamentos da Matéria Orgânica do Solo: Ecossistemas Tropicais e Subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. 580 p. p. 1-8
- MODOLO, V.A., TESSARIOLI, J.N. Desenvolvimento de mudas de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* L.) em diferentes tipos de bandeja e substratos. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 56, n. 2, 1999.
- MOHAMED, A.A., AGNOLON, F., CESCO, S., et al. Incidence of lime-induced chlorosis: plant response mechanisms and role of water soluble humic substances. **Agrochimica**, Pisa, v. 62, n. 6, p. 255-262, nov-dec. 1998
- MOURÃO FILHO, F.A.A., DIAS, C.T.S., SALIBE, A.A. Efeito da composição do substrato na formação de mudas de laranja "Pêra". **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, jan/apr. 1998.

- MULLER, J., MOHR, U., SPRENGER, N., et al. Pool sizes of fructans in roots and leaves of mycorrhizal and non-mycorrhizal barley. **New Phytologist**, New York, v. 142, n. 3, p. 551-559, jun. 1999.
- MUSCOLO, A., SIDARI, M. Biological activity of humic substances and phenolic compounds extracted from two different forest soils of Aspromonte (Southern Italy). **Environmental Bulletin**, Freising-Weihenstephan, v.7, n. 11-12, p. 695-700, nov-dec, 1998
- MUSCOLO, A., BOVALO, F., GIONFRIDDO, F., et al. Earthworm humic matter produce auxine-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. **Soil biology Biochemistry**, Oxford, v. 31, n. 9, p. 1303-1311, aug, 1999
- MUTHUKUMARASAMY, R., REVALTHI, G., LAKSHMINARASIMHAN, C. Diazotrophic associations in sugar cane cultivation in South India. **Tropical Agriculture**, St. Augustine, v. 76, n. 3, p. 171-178, jul. 1999.
- NARDI, S., PIZZEGHELLO, D., RENIERO, F. et al. Biological activity of humic extracted from soils under different vegetation cover. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 30, n. 5-6, p. 621-634, 1999
- NEALE, S.P., SHAN, Z., ADAMS, W.A. Changes in microbial biomass and nitrogen turnover in acidic organic soils following liming. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 9-10, p. 1463-1474, sep-oct. 1997.
- NOVAIS, R.F., SMITH, T.J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: UFV. DPS, 1999. 399 p.
- NUNES, M.A., RAMALHO, J.D.C., DIAS, M.A. Effect of nitrogen supply on the photosynthetic performance of leaves from plants of *Coffea arabica* L. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 44, n. 262, p. 893-899, may. 1993.

- OLAH, R., MASAROVICOVA, E. Response of CO₂ uptake, chlorophyll content, and productional features of forest herb *Smyrniurn perfoliatum* L. (*Apiaceae*) to different light conditions. **Acta Physiologie Plantarum**, Warsaw, v. 19, n. 3, p. 285-293, 1997.
- ORTEGA, E., MUSIENKO, N. El papel del fósforo inorgánico, del fósforo de macroenergía y la fitina en los procesos fisiológicos de la caña de azúcar. **Ciencias de la Agricultura**, La Habana, v. 13, p. 41-49, 1982.
- PANEQUE, V.M., MARTINEZ, M.A. La cachaza como sustituto de los fertilizantes químicos para la caña de azúcar cultivada en un suelo Ferralítico amarillento. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 13, n 1-2, p. 19-25, 1992.
- PEARSON, J.N., JAKOBSEN, I. Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and 3 arbuscular mycorrhizal fungi...**New Phytologist**, New York, v. 124, n. 3, p. 481-488, jul, 1993
- PERA, A., VALLINE, G., SIRENO, I., et al. Effect of organic matter on rhizosphere microorganisms and roots development of *Sorghum* plants in two different soils. **Plant and Soil**, New York, v. 74, p. 3-18, 1983.
- PFEFFER, P.E., DOUDS, D.D., BECARD, G., et al. Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, n. 2, p. 587-598, jun. 1999.
- PINTON, R., CESCO, S., IACOLETING, G., et al. Modulation of NO₃⁻ uptake by water-extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H⁺ATPase. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 42, n. 6, p. 255-262, nov-dec. 1999

- PINTON, R., CESCO, S., SANTI, S., et al. Soil humic substances stimulate proton release by intact oat seedling roots. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.20, n. 6-7, p. 857-869, 1997.
- POCHINOK, J.N. Los métodos de análisis bioquímicos de las plantas. Kiev: Nauka Dunka, 1976. p. 118-130
- POSTUKA, J.W., MACADAM, J.H., WACLAWCZYK-LACH, E., et al. Photosynthetic and respiratory characteristics of *Cortodelia pilosa*, the dominant component of Falkland Islands. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 153, n. 3-4, p. 517-519, oct. 1998.
- PREMUZIC, Z., BARGIELA, M., GARCIA, A., et al. Calcium, iron, potassium, phosphorus and vitamin C of organic and hydroponic tomatoes. **Hortscience**, Alexandria, v.33, n. 2, p. 255-257, apr. 1998
- RAMALHO, J.C., CAMPOS, P.S., QUARTIN. V.L., SILVA, M.J., NUNES, M.A. High irradiance impairments electron transport, ribulose-1,5-biphosphate carboxilase/oxygenase and N assimilation as a function of N availability in *Coffea arabica* L. plants. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 154, n. 3, p. 319-326, mar. 1999.
- RAMALHO, J.C., PONS, T.L., GROENEVELD, H.W., NUNES, M.A. Photosynthetic response of *Coffea arabica* leaves to a short-term high light exposure in relation to N availability. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, n. 1, p. 229-239, sep. 1997.
- RAO, D.L.N., PATHAK, H. Ameliorative influence of organic matter on biological activity of salt-affected soils. **Arid Soil Research and Rehabilitation**, Bristol, v. 10, n. 4, p. 311-319, oct-dec. 1996.

RILLIG M.C., ALLEM F.F. What is the role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant-to-ecosystem response to elevated atmospheric CO₂? **Mycorrhiza**, New York, v. 9, n. 1, p 1-8, Jun. 1999

RILLIG, M.C.; ALLEN, M. F.; KLIRONOMOS ET AL. Arbuscular mycorrhizal percent root infection intensity of *Bromus hordeaceus* grown in elevated atmospheric CO₂. **Mycologia**, Bronx, v. 90, n. 2, p. 199-205, mar-apr, 1998

ROBINSON D., FITTER A. The magnitude and control transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.50, n. 330 p 9-13, Jan. 1999

RUIZ, E. **Evaluación de algunos parámetros químico-físicos de cinco tipos de vermicompost producidos en Cuba**. La Habana, 1996. 67 f. Tesis (Master Science en Química Agrícola) Facultad de Agronomía. Universidad Agraria de la Habana, 1996.

RUIZ, E., GARCÉS, N., GURIDI, F. Propiedades de vermicompost obtenidos en Cuba: su calidad como biofertilizantes y como mejorador del suelo. In: **CONGRESO LATINOAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO**, 14., 1999, Temuco. Anais Temuco: Universidad de la Frontera, 1999. 4 p. (CD-ROM)

SAINZ, M.J., TABOADA-CASTRO, M.T., VILARINO, A. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 205, n. 1, p. 85-92, aug. 1998.

SAKAMOTO, K., HODONO, N. Turnover time of microbial biomass carbon in Japanese upland soils with different textures. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 46, n. 2, p. 483-489, jun. 2000.

SALZER P. , CORBIERE H. , BOLLER T. Hydrogen peroxide acumulation in *Medicago truncatula* roots colonized by the arbuscular mycorrhiza-forming fungus *Glomus intraradices*. **Planta**, New York, v. 208, n. 2, p 319-325, may. 1999.

SANTOS, G.A. **Contribution a l'étude des interactions matière organique et phosphore dans un sol ferralitique**. Nancy, 1984. 147 f. Tese (Doutorado em Engenharia-Ciência do Solo) INPL, 1984

SCHELLENBAUM, L., SPRENGER, N., SCHUEPP, H., et al. Effects of drought, transgenic expression of a fructan synthesizing enzyme and of mycorrhizal symbiosis on growth and soluble carbohydrate pools in tobacco plants. **New Phytologist**, New York, n. 142, n. 1 , p. 67-77, apr. 1999.

SENESI, N., LOFFREDO, E. Influence of soil humic substances and herbicides on the growth of pea (*Pisum sativum* L.) in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 17, n. 2-3, p. 493-500, 1994.

SILVA, F.C. (Org.) **Manual de Análises Química de Solo, Plantas e Fertilizantes**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 370 p. p. 171-224

SINHA, R.K. Embarking on the second green revolution for sustainable agriculture in India: A judicious mix of traditional wisdom and modern knowledge in ecological farming. **Journal of Agricultural & Environmental Ethics**, Dordrecht, v. 10, n. 2, p. 183-197, 1997.

SIQUEIRA, J.O. **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. Lavras: UFLA, 1996. 290 p.

SIQUEIRA, J.O., KLAUBERG , O.F. Micorrizas arbusculares: a Pesquisa Brasileira em Perspectiva. In: NORVAIS, R.F., ALVAREZ, V.H., SCHAEFER, C.G.R.(Eds.)

- Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa, MG: Sociedade Brasileira da Ciência do Solo, 2000. v. 1, 352 p. p. 235-264.
- SORLINI, C. Biotechnological use of microorganisms in agriculture production and environment protection. **Annali di Microbiologia ed Enzimologia**, Milan, v. 46, n. 2, p. 171-185, 1996.
- SOUZA, F.A., TRUFEM, S.F.B., ALMEIDA, D.L., et al. Efeito de pré-cultivo sobre o potencial de inoculo de fungos micorrízicos arbusculares e produção da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 10, p. 1913-1923, out. 1999.
- SUDHAKAR, P., CHATTOPADHYAY, G.N., GANGWAR, S.K., et al. Effect of foliar application of *Azotobacter*, *Azospirillum* and *Beijerinckia* on leaf yield and quality of mulberry (*Morus alba*). **Journal of Agricultural Science**, New York, v. 134, p.227-234, mar. 2000.
- SOTO, F. **Crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica* L.) influido por diferentes condiciones de aviveramiento**. La Habana, 1994. 100 f. Tesis (Doctorado en Ciencias Agrícolas). Instituto de Ciencias Agrícolas, UNAH, 1994
- STEVENSON, F.J. **Humus Chemistry: genesis, composition, reactions**. 2nd ed., New York : John Wiley, 1994. 402 p.
- STEVENSON, F.J., COLE, M.A. **Cycles of Soil. Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients**, New York: John Wiley & Sons, Inc., 1999, 426 p., p. 5-45, 1999.
- STRINGHETA, A.C.O., RODRIGUES, L.A., FONTES, L.E. et al. Caracterização física de substratos contendo composto de lixo urbano e casca de arroz carbonizada como condicionadores. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 21, n. 1, jan., 1997.

- SYLVERTSEN J. P., GRAHAM J.H. Phosphorus supply and arbuscular mycorrhizas increase growth and net gas exchange response of two Citrus spp. Grown at elevated CO₂. **Plant and Soil**, Dordrecht, v 208, n.2, p 209-219. 1999
- TEIXEIRA, M.G., GUERRA, J.G.M., ALMEIDA, D.L., et al. Effect of seed phosphorus concentration on nodulation and growth of three common bean cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 22, n. 10, p. 1599-1611, 1999.
- TERAN, Z., ESPINOSA, R., FERNANDEZ, F. et al. La aplicación de Biofertilizantes y cachaza en la obtención de posturas de cebolla (*Allium cepa* L.). **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 15, n. 1, p 15-20, 1994.
- THOMAS, J.O. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances in freshwater ecosystems. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 38, n. 1, p 1-36, aug, 1997.
- TRASAR-CEPEDA, C., LEIRÓS, M.C. GIL-SOTRES, F. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): specific parameters. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 32, n. 6, p. 747-755, jun. 2000.
- VALDÉS, R. **Influencia de la nutrición nitrogenada y fosfórica sobre algunos aspectos de la fotosíntesis en café**. La Habana, 1985. 143 f., Tesis (Doctorado en Ciencias Biológicas). Facultad de Agronomía, Universidad Agraria de la Habana, 1985
- VAN VOLKENBURGH, E. Leaf expansion- an integrating plant behaviour. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 22, n. 12, p. 1463-1473, dec. 1999.
- VOSATKA, M., GRYNDLER, M. Treatment with culture fractions from *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* and the response of potato

and maize plants to inoculation. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.11, n. 2-3, p 245-251, feb. 1999.

VIÑALES, R., BUSTAMANTE, C., RAMOS, R. Requerimientos nutricionales y coeficiente de aprovechamiento de los fertilizantes minerales por *Coffea arabica* L. I. Crecimiento y extracción de nutrientes. **Cultivos Tropicales**, La Habana, v. 15, n. 3, p. 55- 59, 1994.

XIE Z.P., STAEHELIN C., WIEMKEM A. et al. Symbiosis-stimulated chitinase isoenzymes os soybean (*Glycine max* L. Merr) **Journal of Experimental Botany**, v.50, n. 332, p 327-333, Mar. 1999

YAKOVCHENKO, V.P., SIKORA, L.J., MILLNER, P.D. Carbon and nitrogen mineralization of added particulate and macroorganic matter. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 30, n. 14, p. 2139-2146, dec. 1998.

YOUNG, C.C., CHEN, L.F. Poliamines in humic acids and their effect on radical growth of lettuce seedling. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 195, p. 143-149, 1997.

APÊNDICES

Tabela 13. Indicadores da fertilidade original do solo utilizado nos experimentos I, II e IV.

Indicador	Valor (unidades)
pH (H ₂ O)	5,9
pH (KCl)	5,0
% de M.O.	2,82
K	2,3 mmol kg ⁻¹
Ca	60,1 mmol kg ⁻¹
Mg	18,0 mmol kg ⁻¹
Na	0,4 mmol kg ⁻¹
P	28,9 mg kg ⁻¹

Tabela 14. Conteúdo de M.O., N, P e K nas fontes de matéria orgânica utilizadas no experimento II (EG= esterco de gado, TF= torta de filtro)

Fonte	% de M.O.	% de N	% de P	% de K
EG	30,1	1,85	0,31	1,25
TF	35,2	1,80	0,71	0,21

Tabela 15. Caracterização química parcial (conteúdos totais, em g kg⁻¹) das fontes de matéria orgânica utilizadas nos experimentos III e IV. (VC= vermicomposto, CO= composto, EG= esterco de gado e TF= torta de filtro)

FONTE	C	C/N	P	K	Ca	Mg
VC	195,4 a	11,63	4,22 b	0,41 c	96,88 c	81,4 c
CO	123,4 c	11,44	3,80 c	1,12 b	174,3 b	131,7 a
EG	168,7 b	11,52	1,96 d	1,20 b	108,5 c	118,1 b
TF	74,8 d	11,49	4,58 a	2,38 a	201,5 a	29,06 d
C.V. (%)	6,31	3,89	4,33	8,24	10,5	9,65

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre as médias (teste Tukey para $p < 0,05$).

Tabela 16. Indicadores da fertilidade do solo utilizado no experimento V.

Indicador	Valor (unidades)
pH (H ₂ O)	5,2
C (total)	0,7 (%)
K	156 mg kg ⁻¹
Ca	35 mmol kg ⁻¹
Mg	20,1 mmol kg ⁻¹
Na	0,7 mmol kg ⁻¹
P	6,8 mg kg ⁻¹

Tabela 17. Caracterização parcial do vermicomposto utilizado no experimento V.

Indicador	Valor (unidades)
pH (H ₂ O)	6,2
pH (KCl)	5,9
K (trocável)	18,2 (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)
Ca (trocável)	102,1 (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)
Mg (trocável)	11,5 (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)
Na (trocável)	0,9 (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)
M.O.	23,1 (%)
C	11,16 (mol kg ⁻¹)
N	0,95 (mol kg ⁻¹)
C/N	10,12