



DISSERTAÇÃO

**APLICAÇÃO DE COBRE EM SUBSTRATOS
ORGÂNICOS PARA A PRODUÇÃO DE
MUDAS DE LIMOEIRO 'CRAVO'
ASSOCIADAS A FUNGO MICORRÍZICO
ARBUSCULAR**

ANA FLÁVIA MANGETI METZNER

**Campinas, SP
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

INSTITUTO AGRONÔMICO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA
TROPICAL E SUBTROPICAL

APLICAÇÃO DE COBRE EM SUBSTRATOS
ORGÂNICOS PARA A PRODUÇÃO DE MUDAS DE
LIMOEIRO 'CRAVO' ASSOCIADAS A FUNGO
MICORRÍZICO ARBUSCULAR

ANA FLÁVIA MANGETI METZNER

Orientador: Dra. Adriana Parada Dias da Silveira

Dissertação submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de **Mestre**
em Agricultura Tropical e Subtropical
Área de Concentração em Gestão de
Recursos Agroambientais

Campinas, SP
Abril 2009

Ficha elaborada pela bibliotecária do Núcleo de Informação e Documentação do Instituto Agrônômico

M596a Metzner, Ana Flávia Mangeti
mudas Aplicação de cobre em substratos orgânicos para a produção de mudas de limoeiro 'Cravo' associadas a fungo micorrízico arbuscular / Ana Flávia Mangeti Metzner. Campinas, 2009. 95 fls.

Orientadora: Adriana Parada Dias da Silveira
Dissertação (Mestrado em Gestão dos Recursos Agroambientais) – Instituto Agrônômico

1. Limoeiro 'Cravo' - 2. Mudanças micorrizadas 3. Orgânicos adubados
4. Cobre I. Silveira, Adriana Parada Dias da II. Título

CDD. 634.33

Ao meu pai José Odair e à minha mãe
Maria Lúcia, por todo amor e dedicação
incondicionais durante a minha vida;

Ao meu noivo Jocemar por todo o companheirismo,
amor e estímulo, que me despertam, diariamente,
a vontade de progredir como ser humano,

DEDICO

À Dra. Adriana Parada Dias da Silveira
pela oportunidade e confiança, que abriram
caminho para esta realização, pela qual
sempre serei grata,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

- A Deus, por todas as oportunidades concedidas, diariamente, que me fazem evoluir.
- Aos meus familiares, pela torcida que sempre me dedicam, fundamental para minha vida e conclusão dos meus objetivos, em especial às minhas avós Olga Althen Mangeti e Eliza de Carvalho Metzner, por todo carinho e amor.
- Ao meu avô José Mangeti (*in memoriam*), por tudo o que representa na minha vida e por todos os ensinamentos deixados, a certeza de que, onde ele possa estar, sei que olha por mim sempre. Amo você vô!
- À Dra. Adriana Parada Dias da Silveira, pessoa de coração imenso, pela orientação em todas as etapas desse trabalho, pela confiança, amizade, conversas e, principalmente, por ter me dado a oportunidade de ingressar na pós-graduação sob sua responsabilidade, o que foi imprescindível para a realização de um grande sonho meu.
- À Dra. Sueli dos Santos Freitas, simplesmente por ser uma das pessoas mais incríveis que já conheci, por todo conhecimento transmitido e pelo ótimo convívio diário que fizeram desse curso muito melhor e proveitoso.
- À Dra. Sara Adrián López de Andrade, por todos os ensinamentos e auxílios, por toda a amizade e exemplo de vida que levarei comigo, tamanho o valor que me inspiraram.
- Ao Dr. Dirceu da Mattos Júnior, pela ajuda e conhecimento partilhado, que fez dessa dissertação muito melhor.
- À Dra. Cleide Aparecida de Abreu, pelo auxílio no planejamento do trabalho.
- À Dra. Mônica Ferreira de Abreu, por todas as sugestões concedidas.
- Ao Ms. Fernando César Bachiega Zambrosi, pelo auxílio com as soluções nutritivas.
- Ao Dr. José Antonio de Fátima Esteves, pela atenção e conhecimentos compartilhados.
- À técnica Rosana Gierts Gonçalves, pelos conhecimentos transmitidos, pela ajuda nos experimentos de campo, nas análises laboratoriais e pela amizade tão importante.
- À Sílvia Leite de Campos (Fábrica de Substrato Wolff Klabin) e Ângelo Luiz Malvestiti (Amafibra) pelo fornecimento dos substratos utilizados nos experimentos.

- Aos amigos Matheus Aparecido Pereira Cipriano, Bárbara Zini Ramos, Julia Talazzo de Campos e Luisa Ditzel Facci, que foram um presente para toda a vida e que me mostram o valor da amizade com os mais simples gestos, confirmando sua essencialidade na íntegra.
- Aos colegas da pós-graduação, pelos agradáveis momentos de convivência.
- Aos funcionários da Microbiologia e Qualidade do Solo, em especial à Sandra Mara Teixeira Antunes e Nilza Rezende, por todo o auxílio e amizade.
- Aos funcionários e professores da Pós-graduação, pela atenção, auxílio e ensinamentos constantemente transmitidos.
- À FAPESP pelo apoio financeiro e pela bolsa de estudo concedida.
- A todos que, de alguma forma, participaram desse projeto.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4 RESULTADOS.....	20
4.1 Experimento 1.....	20
4.1.1 Curvas de Crescimento.....	20
4.1.2 Variáveis de Crescimento.....	25
4.1.3 Variáveis Fisiológicas.....	28
4.1.4 Teor de Nutrientes da Parte Aérea.....	33
4.1.5 Quantidade Acumulada de Nutrientes na Parte Aérea.....	40
4.1.6 Índice de Eficiência de Uso (IEU).....	47
4.1.7 Variáveis de Micorrização.....	48
4.2 Experimento 2.....	50
4.2.1 Curvas de Crescimento.....	50
4.2.2 Variáveis de Crescimento.....	57
4.2.3 Variáveis Fisiológicas.....	59
4.2.4 Teor de Nutrientes da Parte Aérea.....	63
4.2.5 Quantidade Acumulada de Nutrientes na Parte Aérea.....	68
4.2.6 Índice de Eficiência de Uso (IEU).....	75
4.2.7 Variáveis de Micorrização.....	77
5 DISCUSSÃO.....	78
6 CONCLUSÕES.....	86
7 REFERÊNCIAS.....	87

METZNER, Ana Flávia Mangeti. **Aplicação de cobre em substratos orgânicos para a produção de mudas de limoeiro ‘Cravo’ associadas a fungo micorrízico arbuscular.** 2009. 95f. Dissertação (Mestrado em Gestão dos Recursos Agroambientais) - Pós-graduação - IAC.

RESUMO

No Estado de São Paulo, a legislação estabelece normas de defesa sanitária vegetal, sendo obrigatória a produção de mudas cítricas com o uso de substrato em recipientes sob viveiros telados. Há grande variedade de substratos no mercado, o que exige um manejo adequado da adubação, sendo a falta ou o excesso de cobre (Cu) um dos fatores que tem afetado a produção de mudas. Uma alternativa para que mudas de qualidade sejam obtidas é a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no substrato, o que aumenta, inclusive, a eficiência do uso dos nutrientes disponíveis. O presente estudo teve como objetivo avaliar o emprego de substratos orgânicos adubados com diferentes doses de Cu para obtenção de mudas micorrizadas de limoeiro ‘Cravo’ [*Citrus limonia* (L.) Osbeck]. Os experimentos foram realizados com delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2x2x5 para o primeiro: com e sem inoculação do FMA, *Glomus intraradices*, dois substratos (fibra de coco e casca de pinus) e cinco doses de cobre (0; 5; 10; 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu), com a pré-inoculação do FMA na sementeira, e 2x3x5 para o segundo: com e sem inoculação do FMA, três substratos (fibra de coco, casca de pinus e turfa) e cinco doses de cobre (0; 5; 10; 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu), com a inoculação do fungo no transplantio. No Experimento 1, sementes de limão ‘Cravo’ foram semeadas em bandejas de isopor, tendo como substrato vermiculita autoclavada, ao qual foi adicionado inóculo do FMA (pré-inoculação). Um mês após a germinação, apenas uma plântula foi transplantada para sacola de polietileno de 4000 cm³, contendo os substratos de cultivo com reinoculação do FMA na base das plântulas. Para o Experimento 2, foram adquiridas mudas com três meses de um viveiro comercial e no transplante realizou-se a inoculação do FMA na base das plantas. Foram avaliadas altura das plantas, o diâmetro do caule, a massa da matéria fresca das raízes, a massa da matéria seca da parte aérea, os teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mn e Fe, a colonização micorrízica, o comprimento do micélio externo total, os teores foliares de clorofila *a*, *b*, *a+b*, carotenóides e a atividade das enzimas fosfatase ácida e redutase do nitrato nas folhas. Para o manejo da solução nutritiva adotado, o melhor desenvolvimento das mudas ocorreu no substrato casca de

pinus, no qual também se observou melhor desempenho da micorrização. Quando a inoculação do FMA foi feita na sementeira, as plantas mostraram maior crescimento nas menores doses de Cu adicionadas, diminuindo com o aumento da concentração de Cu. O teor de P na parte aérea diminuiu e o de Cu aumentou com a adição de doses de Cu. Quando a inoculação foi realizada no transplante, a produção de biomassa da parte aérea aumentou com a adição das doses crescentes de Cu. As plantas apresentaram menor teor de Cu e não houve variação no teor de P. Portanto, a fase de inoculação do fungo micorrízico, o tipo de substrato e a solução nutritiva a ser empregada são fatores determinantes da produção de mudas micorrizadas de limoeiro 'Cravo'.

Palavras-chave: micorriza arbuscular, solução nutritiva, porta-enxerto.

METZNER, Ana Flávia Mangeti. **Copper application in organic substrates for the production of Rangpur lime seedlings associated with arbuscular mycorrhizal fungi**. 2009. 95p. Dissertation (Master degree in Tropical and Subtropical Agriculture) - Post-Graduation - IAC.

ABSTRACT

In the State of São Paulo, change in the law set standards for plant health protection, and required the use of substrate in vessels, under greenhouse conditions to produce citrus seedlings. There are a wide variety of substrates, which require an appropriate and specific management of fertilization; Cu (copper) lack or excess is one of the factors that have most affected the seedlings production. An alternative to obtain high-quality seedlings is the inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to the substrate and, indeed, to increase the efficiency in the use of available nutrients. This study aimed to evaluate the use of organic substrates fertilized with different doses of Cu to obtain mycorrhizal seedlings of rangpur lime (*Citrus limonia*). The experiments were performed with a completely randomized design in factorial scheme 2x2x5 for the first: with and without *Glomus intraradices* inoculation, two substrates (coconut fiber and bark of pine) and five doses of copper (0, 5, 10, 20 and 30 mg L⁻¹ Cu), with AMF inoculation at sowing, and 2x3x5 for the second: with and without fungus inoculation, three substrates (coconut fiber, pine bark and peat) and five doses of copper (0, 5, 10, 20 and 30 mg L⁻¹ Cu), with fungus inoculation at transplanting. In Experiment 1, seeds of rangpur lime were sown in polystyrene trays with autoclaved vermiculite, inoculated with AMF (pre-inoculation). One month after germination, one seedling was transplanted to a 4000 cm³ polyethylene bag, containing the substrate of cultivation and inoculated again with the AMF at the base of the seedlings. For Experiment 2, three-month seedlings were purchased from a commercial nursery and transplanted to the substrates with AMF inoculation at the base of plants. The evaluated variables were: height, stem diameter, root fresh matter weight, shoot dry matter; N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mn and Fe content; mycorrhizal colonization, length of total external mycelium, foliar concentrations of chlorophyll *a*, *b*, *a + b* and carotenoids and activity of acid phosphatase and nitrate reductase in the leaves. For the nutrient solution management used, the better development of the seedlings happened in the substrate of pine bark, in which was also observed better mycorrhization performance. AMF inoculation made at sowing promoted higher plant growth at lower levels of added Cu, decreasing with high Cu concentrations. Shoot P content decreased and Cu content increased with the

addition of Cu. When the inoculation was performed at seedling transplanting, the shoot biomass increased with the Cu addition to the substrate. The plants showed lower Cu content and no change in shoot P content. Thus, the AMF inoculation phase, organic substrate and nutrient solution are important factors to be considered to obtain mycorrhizal seedlings of rangpur lime (*Citrus limonia*).

Key words: arbuscular mycorrhiza, nutrient solution, rootstock.

1 INTRODUÇÃO

A muda é considerada a base do setor citrícola, sendo a sua qualidade genética e sanitária importante para a instalação de pomares produtivos (CARVALHO et al., 2005).

Todos os anos, no Brasil, milhões de árvores são erradicadas devido à ocorrência de problemas fitossanitários como o ‘huanglongbing’ (HLB), morte súbita (MSC), clorose variegada (CVC), declínio dos citros e de outras doenças e pragas. A produção de mudas sadias, livres de patógenos causadores de doenças, além de permitir a formação de pomares típicos da variedade-copa de alta produtividade, possibilita o enquadramento das mudas cítricas nas normas legais de produção e comercialização, que cada vez compõem mais o cenário dessa atividade (GRAF, 2001).

Com a portaria da CDA (Coordenadoria de Defesa Agropecuária), que entrou em vigor em 2005, ratificada pela Resolução SAA-10 (Secretaria da Agricultura e Abastecimento) de 2006, estabeleceu-se normas de defesa sanitária vegetal e certificação de conformidade sanitária de mudas cítricas para o Estado de São Paulo, relatando a necessidade de infra-estrutura adequada, com ambientes protegidos e utilização de substratos, dentre outros requisitos.

A técnica de produção em ambiente protegido está diretamente relacionada a altos investimentos, com infra-estrutura do sistema protegido, sementes de elite e controle das condições do ambiente, mão-de-obra especializada. Nesse quadro, o substrato é um insumo básico, utilizado em substituição ao solo, que serve de base física para o crescimento das raízes, dando suporte à planta e disponibilizando-lhe água e nutrientes. Entre as matérias-primas mais comumente utilizadas na composição de substratos destacam-se turfas, cascas (pinus e arroz), resíduos da agroindústria, fibra de coco, vermiculita, perlita, cinasita (KÄMPF, 2002), contanto que sejam leves, porosos, com boa drenagem, isentos de patógenos de solo, granulometria adequada ao tamanho do recipiente e não sujeitos à fermentação (CARVALHO et al., 2005).

As propriedades biológicas de um substrato estão relacionadas à comunidade microbiana presente no material (MAIORANO et al., 2002). A diversidade e atividade da microbiota influenciam diretamente várias características de um determinado substrato, como a agregação de suas partículas, a disponibilidade de certos nutrientes, a aeração, o armazenamento de água, refletindo assim no desenvolvimento da planta.

A micorriza é parte integrante dos sistemas de produção de citros, que são dependentes dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) (CARDOSO et al., 1986). Esses fungos atuam como prolongamento do sistema radicular da planta hospedeira, aumentando a absorção de nutrientes, especialmente P, Cu e Zn (SILVEIRA, 1992). Um dos fatores que mais influencia o efeito benéfico da micorrização é o nível de fertilidade do substrato, que deve permitir o estabelecimento e o máximo desempenho da simbiose, garantindo um adequado desenvolvimento da planta.

Já se constatou que a inoculação de FMAs eficientes em substratos orgânicos comerciais, geralmente isentos de propágulos do fungo, mostra grande potencial, principalmente em condições de ambiente protegido (MAIORANO, 2003; TRISTÃO et al., 2006) e, o quanto antes a planta é colonizada pelo FMA e uma simbiose ativa se estabelece, melhor é a resposta da planta e mais eficiente pode ser a associação.

Poucos trabalhos foram realizados com o objetivo de avaliar o efeito da micorrização no crescimento de plantas em substratos orgânicos comerciais bem como a influência, o estabelecimento e a eficiência da simbiose. Além disso, não se sabe como o manejo da fertilidade do substrato pode favorecer essa associação e o seu desempenho e, ao contrário, como a simbiose pode aumentar a eficiência da utilização pela planta dos nutrientes presentes ou adicionados aos substratos.

O manejo da adubação é uma prática que influencia, em muito, o rendimento e a qualidade da produção de mudas. Até recentemente, as pesquisas enfocando esse assunto foram concentradas aos macronutrientes. Com relação aos micronutrientes, pouco foi feito, apesar de serem comuns os desequilíbrios nutricionais causados, principalmente por cobre, para muitas culturas desenvolvidas em substrato (PADUA JUNIOR, 2006).

Vários fatores concorrem para a otimização do efeito da micorrização na produção de mudas, como o melhor momento para a inoculação do FMA, o substrato a ser utilizado e o manejo ideal da adubação, uma vez que modulam o estabelecimento e o desempenho da associação micorrízica. Desse modo esse trabalho teve como objetivo avaliar o emprego de substratos orgânicos adubados com diferentes doses de Cu para obtenção de mudas micorrizadas de limoeiro ‘Cravo’ [*Citrus limonia* (L.) Osbeck].

2 REVISÃO DE LITERATURA

A produção de citros no Brasil se firmou a partir de 1970, tendo como base uma agroindústria competitiva. Para acompanhar todo o crescimento desse setor, houve necessidade de aperfeiçoamento dos sistemas de produção de mudas (DONADIO, 1991).

Os citros são plantas perenes, com 4 a 6 m de altura, da família Rutaceae, nativas do Sudeste Asiático. Vegetam e produzem satisfatoriamente em regiões com as mais variadas condições de clima e solo. Os frutos são utilizados para consumo ao natural e para industrialização, de onde são obtidos diferentes produtos processados, como sucos, óleos essenciais, pectina e rações (MATTOS JUNIOR et al., 1998). Para as condições do Estado de São Paulo, as plantas cítricas apresentam dois ciclos anuais de crescimento: de primavera - crescimento vegetativo e floral; e de verão - principalmente vegetativo (MALAVOLTA & VIOLANTE NETO, 1989).

No Estado de São Paulo, o limoeiro ‘Cravo’ é empregado comercialmente desde 1920, porém seu uso foi ampliado a partir de 1950, vindo substituir a laranja Azeda, que apresenta susceptibilidade ao vírus da tristeza do citros. É considerado um porta-enxerto de grande potencial de crescimento em viveiro (TEÓFILO SOBRINHO & FIGUEIREDO, 1984).

Um porta-enxerto é responsável por induzir à copa alterações no crescimento, tamanho, precocidade de produção, produção, maturação e peso dos frutos, coloração da casca e do suco, teor de açúcares, de ácidos e de outros componentes do suco, permanência dos frutos na planta e sua conservação após a colheita, fertilidade do pólen, absorção e utilização dos nutrientes, transpiração e composição química das folhas, resposta a produtos de abscisão dos frutos e folhas, tolerância à salinidade, à seca, ao frio, às doenças e pragas. Assim, para que a planta proporcione o máximo de produtividade, é necessário que seja instalada em um ecossistema a ela apropriado, recebendo os tratamentos culturais necessários e que haja o mais harmônico relacionamento entre copa e o porta-enxerto (POMPEU Jr., 2005).

Há muitas razões para o uso do limoeiro ‘Cravo’ por viveiristas e citricultores: tolerância à tristeza, resistência à seca, facilidade na obtenção das sementes, grande vigor no viveiro e após a enxertia, bom pegamento das mudas por ocasião do plantio no campo, rápido crescimento das plantas, produção precoce, altas produções de frutos de

qualidade regular, compatibilidade com todas as cultivares copas, média resistência ao frio e bom comportamento em solos arenosos (POMPEU Jr., 2005).

O maior vigor de crescimento do limoeiro ‘Cravo’ reflete, portanto, a maior facilidade em se atingir o ponto de enxertia para este porta-enxerto (CARVALHO & SOUZA, 1996), diminuindo o tempo para a formação da muda cítrica, fato este que gera benefícios na comercialização da mesma e no futuro pomar a ser instalado (SCHÄFER et al., 2006).

A muda cítrica é um insumo muito importante na formação do pomar. O caráter perene da cultura determina fundamental importância na sua escolha, que é plantada e manejada por vários anos antes de mostrar seu potencial de produtividade e qualidade de fruto. Outros aspectos, como longevidade das plantas, serão observados num intervalo de tempo ainda maior após o plantio. As características mais importantes da muda cítrica, além da qualidade genética, são a origem do enxerto e do porta-enxerto, bem como a integridade do sistema radicular (LIMA, 1986; CARVALHO et al., 2005).

Todos os anos, no Brasil, milhões de árvores são erradicadas devido à ocorrência de problemas fitossanitários como o ‘huanglongbing’ (HLB), morte súbita (MSC), clorose variegada (CVC), declínio dos citros e de outras doenças e pragas. A produção de mudas sadias, livres de patógenos causadores de doenças, além de permitir a formação de pomares típicos da variedade-copa de alta produtividade, possibilita o enquadramento das mudas cítricas nas normas legais de produção e comercialização (GRAF, 2001).

Considerando a importância da cultura do citros para o Estado, bem como da utilização de mudas sadias para a formação de pomares e a necessidade de aprimoramento do setor do agronegócio de mudas e da implantação de medidas para conter a disseminação de pragas, entrou em vigor, em 03/02/2005, a portaria da CDA-5 (Coordenadoria de Defesa Agropecuária), ratificada pela Resolução SAA-10 (Secretaria da Agricultura e Abastecimento) de 29/03/2006, por meio da qual estabeleceu-se normas de medidas de defesa sanitária vegetal e certificação de conformidade fitossanitária de mudas cítricas no Estado de São Paulo. A legislação atual exige que os porta-enxertos utilizados na formação de mudas devam ser originados de viveiros cadastrados na CDA e produzidos em atendimento às exigências das normas vigentes (SECRETARIA, 2006).

A obtenção de mudas é efetuada em duas etapas: uma de sementeira, na qual tubetes ou bandejas de isopor são utilizados e, posteriormente, a finalização das mudas

em citropotes ou sacolas plásticas, sendo ambas as fases realizadas em casa de vegetação telada (CARVALHO & SOUZA, 1996), em mesas ou suportes a determinada altura do chão (no mínimo 40 cm). Tais características facilitam o isolamento do viveiro, protegendo-o contra doenças e pragas, além de manter a integridade do sistema radicular durante toda fase de produção (LIMA, 1986).

A tecnologia de produção em ambiente protegido está diretamente relacionada a altos custos de investimento, o que inclui infra-estrutura adequada, sementes de qualidade e controle das condições do ambiente. Nesse quadro, o substrato é um insumo básico, utilizado em substituição ao solo, com o cultivo realizado em recipientes. Ele serve de base física para o crescimento das raízes, dando suporte à planta e disponibilizando-lhe a água e os nutrientes. Entre as matérias-primas utilizadas na composição de substratos destacam-se turfas, cascas (pinus, arroz), resíduos da agroindústria, fibra de coco, vermiculita, perlita, cinasita (KÄMPF, 2002).

Segundo a Resolução SAA (SECRETARIA, 2006), o substrato utilizado para a produção de mudas cítricas não pode conter terra de qualquer origem, deve apresentar boa porosidade e ser isento de plantas daninhas, nematóides, fungos do gênero *Phytophthora* e outros patógenos comprovadamente nocivos à cultura. Pode possuir diferentes elementos na sua composição, empregando-se material de disponibilidade regional na maioria das vezes. Além disso, a característica de um mesmo material varia muito em função da sua origem, resultando em substratos com diferentes propriedades físicas e químicas (SAGGIN JÚNIOR & LOVATO, 1999). O uso de diferentes substratos, puros ou de misturas, tem mostrado grande variação nos efeitos sobre o crescimento de plantas cítricas na fase de produção de mudas.

Especialmente nos cultivos em recipientes, a qualidade do substrato torna-se mais importante, pois as relações entre o sistema radicular e esse material são alteradas. Essas alterações foram estudadas por BUNT (1961), que cita como principais: o pequeno volume do recipiente acarreta uma elevação da concentração de raízes, exigindo alto suprimento de oxigênio e remoção de dióxido de carbono; a grande quantidade de água necessária ao crescimento deve estar disponível no volume restrito de substrato; a alta frequência de irrigação pode ocasionar lixiviação de nutrientes.

Nos cultivos com esses materiais, o pequeno volume e a baixa capacidade tampão elevam os riscos, mas também as chances de sucesso agrônomico (MILNER, 2002) devido à praticidade de manejo, economia de biocidas, melhoria de qualidade, padrão de plantas produzidas e o resultado de tais mudanças na comercialização do

produto final (KÄMPF, 2002). Conseqüentemente um sistema sensível como esse, deve ser continuamente monitorado, a fim de se obter bons resultados (MILNER, 2002).

As cascas de pinus empregadas como substrato são basicamente constituídas de lignina, hemicelulose e celulose. Em menores concentrações ocorrem outras substâncias como óleos, resinas, taninos, gorduras, corantes, glicídeos, substâncias minerais e gomas. Após compostada e moída, resulta em partículas de variados tamanhos, com boa drenagem e baixa capacidade de absorção de água. Esse material deve ser adubado, principalmente, com nitrogênio e fósforo, além de adequadamente compostado antes do seu uso, para evitar a imobilização de nitrogênio e a toxicidade de alguns elementos como o manganês (MARTINEZ, 2002). É o substrato mais comumente empregado pelo setor citrícola (ZANETTI et al., 2003).

A fibra de coco é oriunda de indústrias do processamento do mesocarpo fibroso do coco, sendo um material interessante para uso como substrato. Sua introdução no mercado depende de um bom tratamento e preparo, de forma a se obter um produto isento de problemas como a salinidade. Possui textura variada, o que influencia o comportamento em relação ao equilíbrio ar-água, importante para o cultivo das plantas. Apresenta alta porosidade e, em geral, pode reter elevada quantidade de água, todavia facilmente disponível às raízes. Quanto às propriedades químicas, a salinidade apresenta grande variabilidade, a CTC de média a elevada e pH ácido (MARTINEZ, 2002). A fibra de coco pode apresentar níveis tóxicos de tanino, cloreto de potássio e de sódio, cujos teores podem ser reduzidos com lavagem em água corrente de boa qualidade, livre de substâncias químicas e patógenos. Esse material não possui os nutrientes requeridos pelas plantas, portanto, é preciso fornecê-los de acordo com as necessidades da espécie a ser cultivada adicionando-se adubos. As boas propriedades físicas, a não reação com nutrientes da adubação, sua longa durabilidade sem alteração das características físicas, a possibilidade de esterilização, a abundância da matéria-prima que é renovável e o baixo custo para o produtor faz da fibra de coco um produto dificilmente superável por outro tipo de substrato, mineral ou orgânico, no cultivo sem solo (CARRIJO et al., 2002).

Turfa é o termo aplicado à matéria orgânica parcialmente decomposta devido à saturação de água, à restrição de oxigênio ou à baixa temperatura, formada quase que unicamente por restos de plantas (SCHMILEWSKI, 1984). Destaca-se por apresentar elevada porosidade, grande capacidade de retenção de água, sendo este o principal fator que determina sua adequação como substrato, pH baixo e CTC elevada. Um possível

problema da utilização desse material é o impacto negativo ao ambiente, já que a turfa é um material natural não renovável. É consagrada internacionalmente por seu uso como componente de substratos hortícolas, sendo utilizado como padrão de comparação no estudo de novos materiais por suas excelentes características (SCHMITZ et al., 2002).

Respostas de desenvolvimento vegetativo de plantas cítricas em função das características químicas e físicas de diferentes substratos mostram elevado potencial produtivo para as mudas produzidas em substratos à base de casca de pinus e de turfa (BIANCHI et al., 2003; FOCESATO et al., 2006 e 2007).

Existem vantagens e desvantagens na produção em substratos. Algumas vantagens são as possibilidades de cultivo em áreas com condições físicas, químicas e biológicas inadequadas; melhor monitoramento da irrigação; possibilidade de efetuar desinfecção do substrato para sua reutilização; possibilidade de cultivo onde o solo apresenta desuniformidade. Dentre as desvantagens pode-se citar a baixa capacidade tampão, significando baixa tolerância a erros no manejo da irrigação e fertirrigação, exigindo, portanto, monitoramento constante; custos elevados; alto nível tecnológico para interpretar os resultados e tomar decisões corretas (MILNER, 2002).

Um problema relacionado ao uso de substratos orgânicos é o manejo da fertilidade, pois a heterogeneidade das matérias-primas utilizadas na composição desses materiais é muito grande. O manejo da adubação é uma prática que influencia, em muito, o rendimento e a qualidade da produção de mudas. Até recentemente, pesquisas enfocando esse assunto foram direcionadas aos macronutrientes. Para os micronutrientes, embora constantes os problemas nutricionais devido principalmente ao Cu em plantas desenvolvidas em substratos, há pouca informação disponível (PADUA JUNIOR, 2006).

A disponibilidade dos micronutrientes para as plantas é influenciada, de modo geral, pelos fatores pH, matéria orgânica, textura, teor de umidade, potencial redox, temperatura e interações com outros nutrientes (SILLANPÄÄ, 1980).

Segundo HARMSSEN & VLEK (1985), a disponibilidade do Cu é alterada pelo pH, tendendo a diminuir com sua elevação. Esse fato seria devido à diminuição na solubilidade do elemento sob a forma de óxidos, aumento da quantidade adsorvida sobre superfícies ou precipitada e, ainda, maior estabilidade das ligações com a matéria orgânica em valores de pH mais elevados.

O controle da disponibilidade do cobre para as plantas pode ser feito pela utilização de quelatos (FERREIRA & CRUZ, 1991), que são bastante solúveis e,

diferentemente dos sais simples, dissociam-se muito pouco quando em solução. Esse fato é a principal vantagem de tais produtos, pois permitem que o Cu permaneça em solução em condições em que normalmente se insolubilizaria, como em soluções concentradas com reação neutra ou alcalina ($\text{pH} \geq 7$) e em solos alcalinos (MORTVEDT, 1985).

Na planta, o cobre está presente em várias proteínas e participa de inúmeras enzimas, atuando em praticamente todas as vias metabólicas do vegetal, especialmente, no metabolismo de carboidratos, do nitrogênio e na síntese de lignina (BUSSLER, 1981).

Ainda, as propriedades biológicas de um substrato relacionam-se à comunidade microbiana nele presente. A diversidade e atividade da microbiota influenciam diretamente várias características de um determinado material, como a agregação de suas partículas, a disponibilidade de nutrientes, a aeração e o armazenamento de água (MAIORANO et al., 2002). Influenciam também a planta que nele se desenvolve em função desta microbiota ser patogênica ou benéfica, simbiótica ou não. Microorganismos patogênicos podem retardar o crescimento da planta ou até levá-la à morte, causando sérios prejuízos econômicos. Os substratos orgânicos comerciais têm apresentado como problema a presença de *Phytophthora parasitica* e outros patógenos causadores de podridão radicular em plantas cítricas (FUNDECITRUS, 2004).

Micorriza é uma associação mutualística, na qual as raízes das plantas vasculares são invadidas por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), ocorrendo integração morfológica e funcional entre os simbiossitos, com o fungo nutrindo-se de metabólitos da planta e, proporcionando a esta, um aumento significativo na superfície radicular devido à formação do micélio extrarradicular, o que facilita a absorção de água e nutrientes (SILVEIRA, 1992). Os FMAs são obrigatoriamente dependentes de carboidratos da planta hospedeira e o impacto dessa relação para a mesma depende de fatores do solo, do ambiente e, em particular, da capacidade do fungo em compensá-la, pela absorção de água e nutrientes (MARSCHNER & DELL, 1994).

Dentre as estruturas do fungo micorrízico arbuscular na planta hospedeira, o micélio extrarradicular é o que apresenta a maior extensão e biomassa, em comparação com esporos, vesículas ou arbúsculos, concentrando, talvez, a maior quantidade de carboidratos derivados da planta. Considerando o papel do micélio externo na eficiência da associação, pode-se inferir que a sua quantificação é altamente desejável para obter

um conhecimento mais completo de todo o sistema simbiótico (MELLONI & CARDOSO, 1999a).

A simbiose aumenta a biomassa vegetal e influencia a proporção na qual esta se distribui entre parte aérea e raiz. O estímulo da captação de nutrientes e sua posterior translocação à parte aérea causa, relativamente, menor transferência de fotossintatos à raiz e maior retenção deles na parte aérea, sendo utilizado na produção da matéria verde. A maior participação da simbiose está na absorção de íons que se difundem lentamente no solo (SILVEIRA, 1992), transportados por difusão, como H_2PO_4^- ; Zn^{2+} ; Cu^{2+} ; K^+ e NH_4^+ . Para esses, o passo limitante para a absorção é o movimento até a superfície radicular e, como o transporte é muito mais lento que a absorção, é criada, em torno das raízes, uma zona de esgotamento de tais nutrientes, chamada zona de depleção. A morfologia das raízes e o micélio extrarradicular dos FMAs passam, assim, a ter um papel importante, por ultrapassarem a zona de depleção e ampliar as oportunidades de encontrar esses nutrientes, reduzindo as distâncias de transporte e o tempo necessário para o nutriente chegar na planta (SAGGIN JÚNIOR & LOVATO, 1999). Além disso, sob déficit hídrico, a condução direta de água para as raízes pode ser interrompida; nesse caso, as hifas externas passam a atuar na absorção de água e de nutrientes transportados por fluxo de massa (ALLEN & ALLEN, 1986).

A micorriza deve ser considerada como parte integrante dos sistemas de produção das plantas cítricas, que exibem elevada dependência ao micotrofismo. Por serem plantas com sistema radicular profundo e pobre em pêlos absorventes, são altamente dependentes de FMAs para a absorção de nutrientes e para o seu desenvolvimento (FONSECA et al., 1994). Desde a década de 1970 sabe-se que as plantas cítricas paralisam o crescimento quando produzidas em solo esterilizado, devido à eliminação dos fungos micorrízicos (MENGE et al., 1978).

Vários fatores concorrem para o estabelecimento e desempenho da micorriza, sendo a compatibilidade entre a espécie vegetal, a espécie ou isolado do FMA e o meio de cultivo (solo ou substrato) as mais relevantes para garantir a máxima expressão de eficiência da simbiose. Assim, a seleção de fungos eficientes e a adequação do substrato são dois aspectos que devem ser avaliados concomitantemente. No Brasil, para várias plantas cítricas, desde de 1980 estão sendo realizados trabalhos com este objetivo, empregando solo, solo com adição de matéria orgânica e substratos orgânicos comerciais (SILVEIRA & GOMES, 2007).

Os porta-enxertos de citros diferem quanto ao grau de dependência em relação aos FMAs, porém, todos mostram significativos benefícios com a presença de micorrizas. Os fungos, por sua vez, apresentam certa especificidade com relação às variedades de porta-enxertos cujas raízes colonizam, alguns deles resultando em micorrizas mais eficientes que outros, para uma determinada variedade (CARDOSO et al., 1996). Sabe-se que existe variação no comprimento do micélio extrarradicular total de FMAs quando submetidos a diferentes porta-enxertos de citros, o que pode estar ligada à dependência micorrízica do hospedeiro à absorção de nutrientes (MELLONI & CARDOSO, 1999b).

Pelo menos em parte, o aumento da aquisição de Cu devido à infecção por FMA pode ser atribuído à extração e transporte pelas hifas extrarradiculares do fungo para a planta hospedeira (MARSCHNER & DELL, 1994). Em condições controladas esses autores verificaram que o micélio externo de FMAs pode ser responsável por cerca de 60% do Cu absorvido pela planta. Porém, a maior absorção de nutrientes pelas plantas micorrizadas não deve ser unicamente atribuída à extração pelas hifas do fungo. Há também a excreção de compostos quelantes e exoenzimas que aumentam a disponibilidade dos nutrientes para serem absorvidos (MARSCHNER & DELL, 1994).

No manejo de produção mudas cítricas, é viável a inoculação de FMAs, em vista da exigência de pequena quantidade de inóculo necessária. A situação especial de crescimento inicial em condições controladas favorece a introdução dos FMAs no substrato de crescimento das mudas (SAGGIN JÚNIOR & LOVATO, 1999). Além disso, quanto antes a planta for colonizada pelo FMA com o estabelecimento de uma simbiose ativa, melhor é a resposta da planta e mais eficiente a associação.

A vantagem da inoculação dirigida é que as plantas cítricas recebem inóculos específicos. Essa deve ser feita durante a formação da muda, com possíveis efeitos favoráveis já nesta fase (LIMA, 1986; CARDOSO, 1992). Diversas formas de inoculantes vêm sendo testadas dentre elas o “solo-inóculo”, que consiste no solo onde se multiplicou o fungo, contendo esporos, hifas e raízes micorrizadas (SAGGIN JÚNIOR & LOVATO, 1999). Os procedimentos de inoculação de mudas podem ser de vários tipos: (a) inoculação na semeadura; (b) inoculação durante a repicagem de plântulas pré-germinadas e (c) inoculação durante o transplante para o campo (SAGGIN JÚNIOR & LOVATO, 1999).

Os nutrientes, especialmente o fósforo, influenciam na micorriza, principalmente, no estabelecimento da simbiose. Nos solos com alta disponibilidade de

fósforo há redução na colonização das raízes, tornando a micorrização dispensável para a planta, pois essa se encontra bem nutrida neste nutriente e o fungo pode exercer efeito negativo à planta hospedeira. Porém, em solos deficientes em fósforo, adições de pequenas doses do elemento resultam em aumento da colonização (CARDOSO et al., 1986; SIQUEIRA & COLOZZI FILHO, 1986; SENA et al., 2004).

Além disso, a micorrização exerce efeito acentuado sobre os teores de outros nutrientes além do P. Efeitos positivos têm sido observados em relação a N, K, Ca, Mg e Cu, e negativos em relação a N, Zn e Mn, quando o P disponível está presente em baixas concentrações no solo (COLOZZI-FILHO & SIQUEIRA, 1986).

Fungos micorrízicos influenciam significativamente o desenvolvimento de plantas cítricas nos primeiros meses de crescimento, causando incrementos na altura e na produção de matéria seca da parte aérea da planta. A inoculação de FMA, em substrato esterilizado, promove uma economia de grande parte do adubo fosfatado necessário à produção de mudas não-micorrizadas, conseguindo-se plantas em ponto de enxertia oito meses após a sementeira (CARDOSO et al., 1986). A precocidade de produção da muda é de grande interesse por aumentar a produtividade do viveiro, a rotatividade na ocupação da infra-estrutura e o maior uso da mão-de-obra (SILVEIRA et al., 2003).

MAIORANO (2003), avaliando o comportamento de substratos orgânicos comerciais à base de casca de pinus (Plantmax, Terra do Paraíso-1075 e 1051, Vida Verde) e à base de fibra de coco (FC-47 e 80) e inoculação de FMAs (*Glomus etunicatum* e *Glomus intraradices*) na obtenção de mudas micorrizadas de limoeiro ‘Cravo’, constatou que a inoculação em substratos orgânicos comerciais promoveu maior crescimento das plantas, favorecendo a obtenção de mudas do porta-enxerto limoeiro ‘Cravo’. A utilização de diferentes substratos proporcionou diferentes respostas ao desenvolvimento das plantas, sendo que o substrato que melhor crescimento proporcionou foi a fibra de coco 47, já suplementada com fertilizantes químicos pelo fabricante, principalmente com a inoculação de *Glomus intraradices*.

TRISTÃO (2005), objetivando avaliar o efeito de diferentes espécies de FMAs no crescimento de plantas de café, utilizando-se substratos orgânicos comerciais (à base de casca de pinus e fibra de coco), concluiu que o uso de substratos orgânicos e a inoculação de FMA mostraram-se eficientes para a produção de mudas de café.

SOUZA et al. (1997) avaliando a ação de *Glomus intraradices* sobre o desenvolvimento do citrange ‘Troyer’, cultivado em dois substratos de cultivo

(substrato à base de areia silícea e substrato à base de turfa), concluíram que a inoculação do FMA em questão permitiu o maior desenvolvimento dos porta-enxertos, independentemente do substrato utilizado. O substrato à base de turfa proporcionou plantas com maior diâmetro de caule, o que possibilitaria a antecipação da enxertia, reduzindo o período de produção de mudas.

A pesquisa com FMAs em mudas de espécies cítricas tem alcançado êxito no que diz respeito à aceleração do desenvolvimento vegetal, antecipação da enxertia e obtenção de plantas mais resistentes a estresses ambientais (CARDOSO et al., 1986), podendo aumentar a lucratividade do produtor. Todavia, mais trabalhos são necessários para se avaliar o efeito da micorrização no crescimento de plantas em substratos orgânicos bem como a forma como estes influenciam o estabelecimento e desempenho da simbiose. Além disso, também não se sabe como o manejo da fertilidade do substrato pode favorecer o grau de eficiência da associação micorrízica.

A possibilidade de recomendação e uso imediato dos FMAs ainda é restrita, uma vez que não há no mercado inóculo comercial de FMA e se restringir às culturas que passam por uma fase em viveiro. Todavia, um exemplo prático é o viveiro da CUTRALE que produz seu próprio inóculo de FMA, empregando em substrato orgânico comercial para a produção de suas mudas de plantas cítricas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o emprego de substratos orgânicos adubados com diferentes doses de Cu para obtenção de mudas micorrizadas de limoeiro 'Cravo' [*Citrus limonia* (L.) Osbeck].

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Solos e Recursos Ambientais do Instituto Agrônomo (IAC), em Campinas, São Paulo.

Para verificar a eficiência da inoculação do fungo micorrízico arbuscular em diferentes substratos orgânicos e em épocas distintas do desenvolvimento da planta, dois experimentos foram realizados. O delineamento experimental do primeiro experimento foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2x2x5 com seis repetições, sendo com e sem inoculação do fungo micorrízico arbuscular (FMA), dois substratos (fibra de coco e casca de pinus) e cinco doses de cobre (0; 5; 10; 20 e 30 mg L⁻¹ de substrato). O segundo experimento foi em esquema fatorial 2x3x5 com 8 repetições, constando dos

fatores: com e sem inoculação do FMA, três substratos (fibra de coco, casca de pinus e turfa) e cinco doses de cobre (0; 5; 10; 20 e 30 mg L⁻¹ de substrato).

Utilizou-se Cu-EDTA como fonte do micronutriente (produto comercial Librel Cu) que continha 14% de Cu. Considerou-se o volume da sacola preenchido com substrato (3000 cm³) para o cálculo da dose do produto comercial a ser aplicada. A mesma foi dividida em 10 aplicações, sendo efetuadas quinzenalmente na forma de solução, com auxílio de uma seringa. Utilizou-se o equivalente: 0; 107,1; 214,3; 428,5 e 642,9 mg por sacola do produto comercial nas doses 0; 5; 10; 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu, respectivamente. A solução foi preparada, no momento de cada aplicação, utilizando-se 20 mL em cada sacola.

Os substratos de cultivo não foram desinfestados. No enchimento das sacolas, coletaram-se amostras dos substratos para análise de fertilidade, antes da primeira aplicação de solução nutritiva e da adição das doses de Cu. A tabela 1 mostra as características químicas dos três substratos utilizados nos experimentos.

A adubação com macro e demais micronutrientes ocorreu de 2 a 3 vezes por semana, na água de irrigação, similar para todos os tratamentos de ambos os experimentos. Foi realizada individualmente por sacola com auxílio de copo graduado com volume de 200 mL de solução nutritiva por planta. Isso se repetiu até o final do experimento. Na tabela 2 está a formulação da solução nutritiva utilizada bem como as fontes dos nutrientes. A quantidade total utilizada das fontes dos nutrientes em ambos os experimentos consta da tabela 3.

Para o manejo da irrigação foi realizado um teste preliminar para se determinar o máximo volume de água adicionado aos substratos sem que houvesse lixiviação. Obteve-se, então, o volume de 200 mL, que foi adotado para os três substratos. Fez-se uso de água destilada durante todo o período experimental.

O inóculo do FMA originou da coleção de FMAs do setor de Microbiologia do Solo do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Solos e Recursos Ambientais (IAC). O solo inóculo foi obtido pela multiplicação do fungo, a partir de esporos puros, em *Brachiaria decumbens*, usada como planta hospedeira. Consta de pedaços de raiz colonizadas, hifas e esporos. Para quantificação dos esporos do fungo foi coletada uma amostra de 50 mL de substrato que foi submetida ao peneiramento úmido (GERDEMANN & NICOLSON, 1963) e centrifugação em sacarose (JENKINS, 1964).

Para a contagem dos esporos, utilizou-se um microscópio estereoscópio com aumento de até 40 vezes.

O porta-enxerto utilizado foi o limoeiro ‘Cravo’ [*Citrus limonia* (L.) Osbeck]. Para o Experimento 1, sementes, após terem sido desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio 25% v/v, foram semeadas em bandejas de isopor (76 células), utilizando vermiculita autoclavada como substrato, para obtenção das plântulas. Foram colocadas duas sementes por célula. Na base de cada semente no tratamento com FMA foi realizada a pré-inoculação do FMA *Glomus intraradices*, constituído por pedaços de raízes colonizadas, hifas e cerca de 1000 esporos por célula da bandeja. Um mês após a germinação, uma plântula foi eliminada, mantendo-se apenas uma, que posteriormente foi transplantada para sacolas de polietileno de 4000 cm³, contendo um determinado substrato de cultivo. No transplante, fez-se nova inoculação do FMA na base das plântulas, adicionando-se pedaços de raízes colonizadas, hifas e cerca 1200 esporos por sacola, na mesma forma de solo-inóculo.

Tabela 1 - Análise química dos substratos utilizados nos experimentos.

Substrato	pH	CE	P	K	Ca	Mg	S	Na
		dS m ⁻¹	-----g L ⁻¹ -----					
FC ¹	5,7	0,3	10,1	108,0	0,7	0,4	17,1	6,7
CP ²	6,6	0,6	31,0	29,9	6,2	1,0	32,3	2,3
T ³	5,5	0,2	0,1	2,9	5,8	3,9	1,1	1,0
	B	Cu	Fe	Mn	Zn	Cl	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺
	-----mg L ⁻¹ -----							
FC	0,2	0,02	0,1	0,01	0,02	57,2	0,0	2,0
CP	0,2	0,03	0,7	0,1	0,04	5,7	17,4	78,5
T	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	1,1	8,6	1,8

Método de extração: 1:1,5 (Holanda). Métodos de determinação: N-(amoniaco e nitrato): destilação; K, Ca, Mg, P, S, Cu, Fe, Mn, Zn: ICP-OES; C-orgânico: Walkley-Black; Nitrogênio-Kjeldahl.

¹FC = Fibra de coco, ²CP = Casca de pinus e ³T = Turfa.

Para o Experimento 2 foram adquiridas mudas de viveiro comercial com três meses após a semeadura e, no transplante para sacolas de polietileno de 4000 cm³, somente para os tratamentos com FMA realizou-se a inoculação do FMA *Glomus*

intraradices na base das plantas, adicionando-se pedaços de raízes colonizadas, hifas e, aproximadamente, 1200 esporos por sacola na forma de solo-inóculo.

As plantas testemunhas, sem inoculação de FMAs, de ambos os experimentos receberam um filtrado do solo-inóculo sem propágulos do FMA, porém com a mesma microbiota presente.

Tabela 2. Formulação da solução nutritiva e fontes dos nutrientes utilizados (Comunicação pessoal Pedro Furlani).

Macronutriente	Solução Final	Fonte do Nutriente	Solução Final
	mg L ⁻¹		g L ⁻¹
N-NO ₃	196	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,910
N-NH ₄	44	KNO ₃	0,333
N-Total	240	NH ₄ H ₂ PO ₄ (MAP)	0,045
P	20	K ₂ SO ₄	0,235
K	216	NH ₄ NO ₃	0,150
Ca	120	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,575
Mg	30		
S	40		
Micronutriente	Solução Final	Fonte do Nutriente	Solução Final
	mg L ⁻¹		mg L ⁻¹
B	0,55	H ₃ BO ₃	3,14
Fe	1,80	Fe-EDDHA	1,14
Mn	0,54	MnSO ₄ .H ₂ O	1,66
Zn	0,23	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,01
Mo	0,10	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25

Tabela 3. Quantidade total aplicada das fontes dos nutrientes nos experimentos.

Fonte	Aplicado	Fonte	Aplicado
	g L ⁻¹		mg L ⁻¹
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,64	H ₃ BO ₃	1,02
KNO ₃	0,23	Fe-EDDHA	16,5
NH ₄ H ₂ PO ₄ (MAP)	0,03	MnSO ₄ .H ₂ O	0,56
K ₂ SO ₄	0,17	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22
NH ₄ NO ₃	0,13	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,07
Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,41		

Durante o período em que as mudas permaneceram em casa de vegetação, foram avaliadas, a cada vinte dias, a altura e o diâmetro do caule, possibilitando, dessa forma, a obtenção de curvas de crescimento.

Dez dias antes da colheita, foram determinados os teores de clorofila *a*, *b*, *a+b* e carotenóides, além da atividade das enzimas fosfatase ácida e redutase do nitrato nas folhas.

Para a determinação do conteúdo de clorofila foliar e carotenóides realizou-se a extração dos pigmentos de 50 mg de tecido foliar (do segundo e terceiro pares de folhas), utilizando-se 100% de dimetilsulfóxido, em banho maria a 65 °C por 1 h. A leitura dos extratos foi realizada por espectrofotometria UV-visível em três comprimentos de onda: 470, 646 e 663 nm. O conteúdo de pigmentos foi obtido a partir das equações propostas por LICHTENTHALER & WELLBURN (1983) e os resultados expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato.

A atividade da enzima fosfatase ácida foi determinada segundo BESFORD (1980). Uma amostra de 100 mg de tecido foliar (do segundo e terceiro pares de folhas), cortado em pedaços de aproximadamente 3x2 mm, foi incubada em 8 mL da solução p-nitrofenilfosfato de sódio (0,0328 g de p-nitrofosfato foi diluído em 500 mL de acetato de sódio 0,1 mol L⁻¹ e, posteriormente, foi corrigido o pH para 4,0 com adição de HCl) por 20 min a 30 °C. Prepararam-se tubos com 2 mL de NaOH 2 mol L⁻¹ e acrescentaram-se 5 mL da mistura reatora. Os mesmos procedimentos foram efetuados para as soluções-padrão. Posteriormente, foi realizada a leitura em espectrofotômetro, no UV visível, a 410 nm. A curva padrão foi feita com as seguintes concentrações de 4-nitrofenol: 0; 25; 50; 75; 100 e 125 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os resultados foram expressos em μg de p-nitrofenilfosfato g⁻¹.min⁻¹.

A atividade da enzima redutase do nitrato foi determinada de acordo com HAGEMAN E FLESHER (1960). Folhas do terceiro trifólio foram cortadas em pedaços de aproximadamente 3 mm. Utilizaram-se 200 mg de folhas, que foram colocadas em tubos com tampa rosqueável e adicionaram-se 5 mL de substrato tamponado (KNO₃ 200 mmol L⁻¹ em tampão fosfato 50 mmol L⁻¹ com pH 7,4 e 0,5% v/v de Tween-20). Esses tubos, com as tampas desrosqueadas, foram colocados em dessecador e introduziu-se vácuo durante 2 min, por 3 vezes. Os tubos foram rosqueados e envoltos com papel alumínio para incubação em banho maria, a 35 °C, por 60 min. Após o período de incubação, 2 mL do substrato das amostras foram transferidos para tubos de ensaio preparados com 1 mL de solução de sulfanilamida 1% m/v em HCl 2 mol L⁻¹ (40 mL de HCl concentrado; 25 g de sulfanilamida e o volume completado para 250 mL com água destilada) e 1 mL de solução de α -naftilenodiamino 0,05% m/v (0,125 g de α -naftil em 250 mL de água destilada). Preparou-se um tubo com 2 mL de substrato tamponado, 1

mL de solução de sulfanilamida 1% em HCl 2 mol L⁻¹ e 1 mL de solução de α -naftilenodiamino 0,05% m/v para ser usado como branco e calibrar o espectrofotômetro. A curva padrão foi obtida com as seguintes concentrações de NO₂⁻: 0; 0,001; 0,002; 0,003; 0,004 e 0,005 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A absorvância foi determinada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$.

A colheita de ambos os experimentos deu-se 160 dias após o transplante, quando foi feita uma avaliação final da altura e do diâmetro do caule. Após coleta da parte aérea e das raízes, amostras dos substratos foram coletadas para análise. Para quantificação do micélio extrarradicular do FMA, o substrato foi homogeneizado por agitação e uma amostra foi coletada para cada um dos tratamentos.

A parte aérea coletada foi lavada com água destilada, seca em estufa de circulação de ar a 65 °C até massa constante, pesada para obtenção da massa da matéria seca da parte aérea (MSPA), triturada em moinho tipo Wiley e utilizada para análise do teor de macro e micronutrientes, segundo BATAGLIA et al. (1983). A raiz coletada foi lavada em água corrente sob peneira de malha 0,53 mm, seca em papel absorvente e pesada para obtenção da massa da matéria fresca da raiz (MFR). Foi retirado 1 g de raiz fina para avaliação da colonização micorrízica.

Foram calculados os índices de eficiência de utilização (IEU) dos nutrientes P e Cu através da relação entre a MSPA e a quantidade acumulada do nutriente na planta (SIDDIQI e GLASS, 1981).

Para avaliação da porcentagem de colonização, as amostras de raízes foram clarificadas com KOH a 4% v/v por 10 min, acidificadas com HCl a 2% v/v por 12 h e coradas com 'trypan-blue' por 5 min (PHILLIPS & HAYMAN, 1970) e a colonização avaliada pelo método da lâmina com segmentos de raiz (GIOVANNETTI & MOSSE, 1980), com o auxílio de um microscópio de luz, com aumento de até 40 vezes. Os resultados obtidos foram transformados para arco-seno da raiz de x antes de serem analisados estatisticamente.

O micélio externo foi extraído a partir de 10 g do substrato, com o qual foi preparado uma suspensão com 1500 mL de água. Após filtração em peneiras de malha 0,71 e 0,25 mm, a suspensão foi agitada em liquidificador, na menor velocidade, por um tempo de 30 s. Após agitação, foi mantida em repouso por 2 min para a retirada de uma alíquota de 500 mL. Essa alíquota foi filtrada em peneira de 0,44 μm , sendo o material retido transferido para frasco de 15 mL de capacidade, utilizando água destilada, até um volume final de 11 mL. Do material contido no frasco retirou-se uma alíquota de 5 mL

que foi filtrada à vácuo em membrana filtrante de policarbonato, quadriculada (linhas horizontais e verticais distanciadas de 3 mm), de 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade. Após a filtração, a membrana foi colocada em lâmina de vidro e adicionaram-se gotas de corante ‘trypan-blue’ até preenchimento total da membrana. Essa foi seca ao ar e, com o auxílio de microscópio no aumento de 25 vezes, utilizando-se uma ocular reticulada (10 linhas verticais e 10 linhas horizontais), foi efetuada a contagem do micélio externo, aplicando-se posteriormente, a equação simplificada proposta por MELLONI & CARDOSO (1999a) para determinação do comprimento de micélio externo total.

Tabela 4. Análise química dos substratos do experimento 1 ao final do período experimental.

Substrato	Dose Cu	pH	CE	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P	K	Ca	Mg
	mg L ⁻¹		dS m ⁻¹	-----mg L ⁻¹ -----					
	0	6,5	1,0	48,9	9,3	28,2	271,9	7,4	5,6
	5	6,4	0,9	35,9	10,7	27,9	254,5	5,6	3,7
	10	6,7	0,8	38,5	11,5	22,0	215,5	5,0	2,9
	20	6,5	0,9	50,0	10,4	21,2	236,8	5,6	3,2
	30	6,6	0,9	48,9	11,1	20,9	228,5	5,9	3,1
FC ¹	Dose Cu	S	Cl	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg L ⁻¹	-----mg L ⁻¹ -----							
	0	32,4	54,7	28,4	0,2	0,02	0,2	0,02	0,1
	5	33,5	63,5	28,4	0,1	1,2	1,0	0,01	0,5
	10	23,9	39,1	25,5	0,1	3,6	0,6	0,02	0,6
	20	23,9	46,2	32,8	0,1	7,7	0,8	0,02	0,7
	30	23,9	38,7	37,9	0,1	12,4	0,6	0,01	0,6
Substrato	Dose Cu	pH	CE	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P	K	Ca	Mg
	mg L ⁻¹		dS m ⁻¹	-----mg L ⁻¹ -----					
	0	3,8	1,4	141,0	18,1	38,7	178,2	59,6	36,4
	5	3,7	1,3	120,3	13,3	41,8	161,4	55,0	33,6
	10	3,8	1,5	145,1	15,9	38,8	175,7	68,5	40,5
	20	3,8	1,5	146,2	15,2	39,6	185,4	62,7	39,9
	30	3,7	1,9	193,2	22,2	43,8	213,4	81,2	53,1
CP ²	Dose Cu	S	Cl	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg L ⁻¹	-----mg L ⁻¹ -----							
	0	43,3	8,5	21,8	0,1	0,1	0,1	2,6	0,1
	5	39,3	8,5	23,3	0,1	0,1	1,0	2,6	0,1
	10	48,0	10,7	23,3	0,1	0,03	1,8	3,1	0,1
	20	44,3	7,5	33,5	0,1	0,1	3,7	2,8	0,1
	30	53,1	23,1	42,2	0,1	0,1	9,4	2,7	0,2

Método de extração: 1:1,5 (Holanda). Métodos de determinação: N-(amoniaco e nitrato): destilação; K, Ca, Mg, P, S, Cu, Fe, Mn, Zn: ICP-OES; C-orgânico: Walkley-Black; Nitrogênio-Kjeldahl.

¹FC = Fibra de coco e ²CP = Casca de pinus.

Tabela 5. Análise química dos substratos utilizados no experimento 2 ao final do período experimental.

Substrato	Dose Cu	pH	CE	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P	K	Ca	Mg
	mg L ⁻¹		dS m ⁻¹	mg L ⁻¹					
FC ¹	0	6,1	0,4	0,2	0,2	4,9	87,6	1,8	0,8
	5	6,0	0,6	0,5	1,3	6,4	133,1	2,7	1,5
	10	6,1	0,6	5,0	5,7	8,4	142,3	3,6	1,8
	20	6,2	0,6	1,9	3,8	7,0	149,4	2,9	1,6
	30	6,0	0,8	16,1	9,2	11,2	196,4	5,2	3,2
	Dose Cu	S	Cl	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹							
	0	14,2	63,2	15,8	0,1	0,02	0,2	0,01	0,04
	5	26,2	92,3	29,3	0,1	0,7	1,9	0,02	0,3
	10	27,6	78,8	31,1	0,1	3,2	1,8	0,01	0,8
20	24,6	77,7	32,9	0,1	6,9	2,5	0,01	0,8	
30	39,9	92,7	49,3	0,1	17,0	2,3	0,02	1,2	
Substrato	Dose Cu	pH	CE	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P	K	Ca	Mg
	mg L ⁻¹		dS m ⁻¹	mg L ⁻¹					
CP ²	0	4,4	0,5	7,8	4,7	13,6	49,3	16,0	9,9
	5	4,4	0,7	20,6	9,6	14,3	58,7	26,8	15,1
	10	4,2	0,6	13,8	5,7	14,7	58,7	27,0	15,1
	20	4,2	0,6	9,6	5,7	14,5	55,4	20,0	11,4
	30	4,3	0,7	17,6	6,5	15,2	66,6	25,4	13,8
	Dose Cu	S	Cl	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹							
	0	31,9	32,3	25,0	0,04	0,01	0,2	0,5	0,04
	5	42,8	32,7	28,6	0,04	0,01	1,4	0,9	0,1
	10	44,3	45,4	31,9	0,02	0,02	3,8	0,8	0,1
20	41,8	35,9	32,3	0,01	0,03	6,6	0,7	0,1	
30	38,9	50,1	37,4	0,03	0,1	9,8	0,9	0,1	
Substrato	Dose Cu	pH	CE	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P	K	Ca	Mg
	mg L ⁻¹		dS m ⁻¹	mg L ⁻¹					
T ³	0	6,1	0,2	3,6	1,0	0,1	4,5	4,6	3,7
	5	5,9	0,3	6,6	1,6	0,1	5,4	7,5	5,8
	10	6,0	0,2	3,4	1,1	0,0	2,7	4,1	3,3
	20	6,0	0,2	5,8	1,7	0,0	4,0	4,3	3,4
	30	6,0	0,2	1,2	1,1	0,0	4,3	4,8	3,7
	Dose Cu	S	Cl	Na	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹							
	0	4,0	34,8	17,2	0,02	0,1	0,1	< 0,01	0,01
	5	3,2	61,1	19,8	< 0,01	0,05	0,9	0,01	0,01
	10	3,0	32,0	15,1	< 0,01	0,03	1,7	< 0,01	0,01
20	4,4	32,3	19,4	< 0,01	0,1	4,5	< 0,01	< 0,01	
30	4,1	29,5	19,0	< 0,01	0,1	5,6	< 0,01	0,02	

Método de extração: 1:1,5 (Holanda). Métodos de determinação: N-(amoniaco e nitrato): destilação; K, Ca, Mg, P, S, Cu, Fe, Mn, Zn: ICP-OES; C-orgânico: Walkley-Black; Nitrogênio-Kjeldahl.

¹FC = Fibra de coco, ²CP = Casca de pinus e ³T = Turfa.

Tabela 6. Análise química dos substratos ao final do período experimental.

Substrato	Dose Cu	N	C	C/N	CTC
	mg L ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹		mmolc kg ⁻¹
FC ¹	0	4,8	384,9	81,0	649,7
	5	7,1	346,3	49,1	540,6
	10	5,9	369,8	62,6	603,7
	20	6,1	381,2	62,6	562,3
	30	6,6	351,7	53,4	521,2
CP ²	0	6,3	347,0	54,9	728,3
	5	9,0	383,2	42,5	718,3
	10	5,6	404,7	72,7	773,2
	20	6,9	315,6	45,9	681,7
	30	9,9	319,3	32,3	743,2
T ³	0	5,8	124,4	21,5	607,8
	5	6,2	111,2	17,9	574,3
	10	5,9	112,9	19,0	524,5
	20	6,0	133,2	22,3	586,6
	30	5,8	132,6	22,8	623,1

Resultados para os teores totais de Carbono e Nitrogênio foram feitos pelo novo equipamento de análise elementar de CNS (marca ELEMENTAR CNS). Capacidade de Troca de Cátions: Método descrito na IN 17 de 21/05/2007.

¹FC = Fibra de coco, ²CP = Casca de pinus e ³T = Turfa.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, teste de Tukey a 5% e análise de regressão utilizando-se o programa SISVAR.

4 RESULTADOS

4.1 Experimento 1

4.1.1 Curvas de Crescimento

Até os 80 dias após o transplante, as plantas não micorrizadas cultivadas na fibra de coco (Figura 1a) sem a aplicação de cobre tiveram altura superior quando comparadas às plantas que receberam doses maiores que 5 mg L⁻¹ de Cu na fertirrigação. A partir desse momento, as mudas que receberam 5 mg L⁻¹ de Cu passaram a apresentar os maiores valores de altura, enquanto que as que receberam 30 mg L⁻¹, os menores. As plantas micorrizadas (Figura 1b) apresentaram comportamento similar no crescimento em altura até 80 dias após o transplante. A partir desta avaliação, a dose 5 mg L⁻¹ de Cu resultou nos maiores valores de altura em todas as avaliações subsequentes, superando em, aproximadamente, 10 cm a altura atingida pelas plantas não micorrizadas ao final do período experimental. As doses de Cu testadas

repercutiram nos menores valores de altura das mudas micorrizadas, resultados ainda superiores aos obtidos nas mesmas doses para o limão 'Cravo' não micorrizado. Pode-se dizer que a micorrização influenciou positivamente a altura das plantas crescidas no substrato fibra de coco. A dose de 5 mg L⁻¹ de Cu foi a mais adequada para o desenvolvimento das mudas em altura, independentemente da inoculação do *Glomus intraradices*.

Tanto as plantas não micorrizadas como as micorrizadas cultivadas em casca de pinus (Figura 2a, b) apresentaram menor crescimento em altura quando o cobre não foi aplicado ao substrato e maior altura quando 30 mg L⁻¹ foi aplicado. Todavia, as mudas micorrizadas de limoeiro 'Cravo' atingiram 65 cm de altura, com 30 dias de antecedência, quando comparadas às mudas não micorrizadas, o que reflete no encurtamento do período de produção em viveiro, antecipando o ponto de enxertia e o tempo de transplante para o campo.

Ao se comparar a altura de plantas micorrizadas e não micorrizadas entre os substratos, visualiza-se que ao final do período experimental (150 dias após o transplante) as plantas crescidas em casca de pinus apresentaram os maiores valores de altura, independentemente da micorrização, indicando que esse substrato foi mais adequado por adiantar o ciclo de produção.

Na figura 3, observa-se o diâmetro de caule das mudas de limão 'Cravo' que utilizaram fibra de coco como substrato de cultivo. Para ambas as plantas, não micorrizadas e micorrizadas (Figura 3a, b) a dose 5 mg L⁻¹ de Cu resultou nos maiores diâmetros de caule. Entretanto, as plantas não atingiram o diâmetro adequado para a enxertia (7 mm) durante o período experimental. Além disso, ao final do período experimental, o diâmetro de caule do limão 'Cravo' micorrizado foi superior, demonstrando o benefício da micorrização na antecipação do ponto de enxertia. As plantas não micorrizadas (Figura 3a) crescidas na dose de 30 mg L⁻¹ de Cu tiveram os menores valores de diâmetro de caule em todas as avaliações desde o transplante. Para as plantas micorrizadas (Figura 3b), as maiores doses de cobre aplicadas às plantas (20 e 30 mg L⁻¹) causaram os menores diâmetros do caule.

O diâmetro do caule das plantas não micorrizadas cultivadas em casca de pinus (Figura 4a) aponta que as mudas que não receberam Cu tiveram os menores valores de diâmetro ao longo do período experimental. A adição de 10 mg L⁻¹ de Cu causou maiores valores de diâmetro de caule das plantas ao final do experimento.

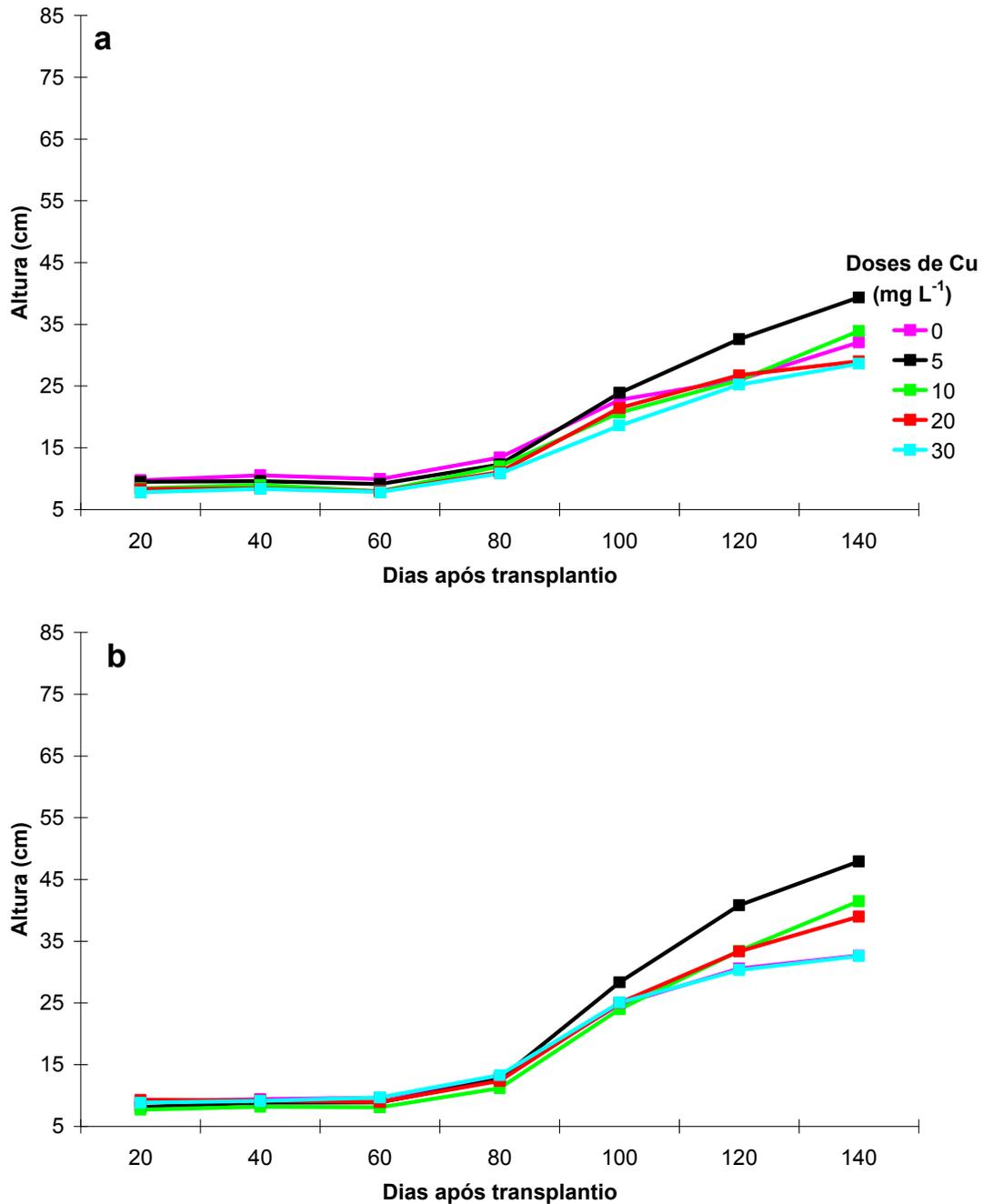


Figura 1. Altura das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando fibra de coco como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

As plantas micorrizadas (Figura 4b) cultivadas na dose de 30 mg L⁻¹ mostraram, 20 dias após o transplante, os menores valores de diâmetro. Entretanto, aos 120, nesta mesma dose, atingiram o ponto de enxertia (7 mm), o que não foi observado nas plantas não micorrizadas ao final do experimento (150 dias).

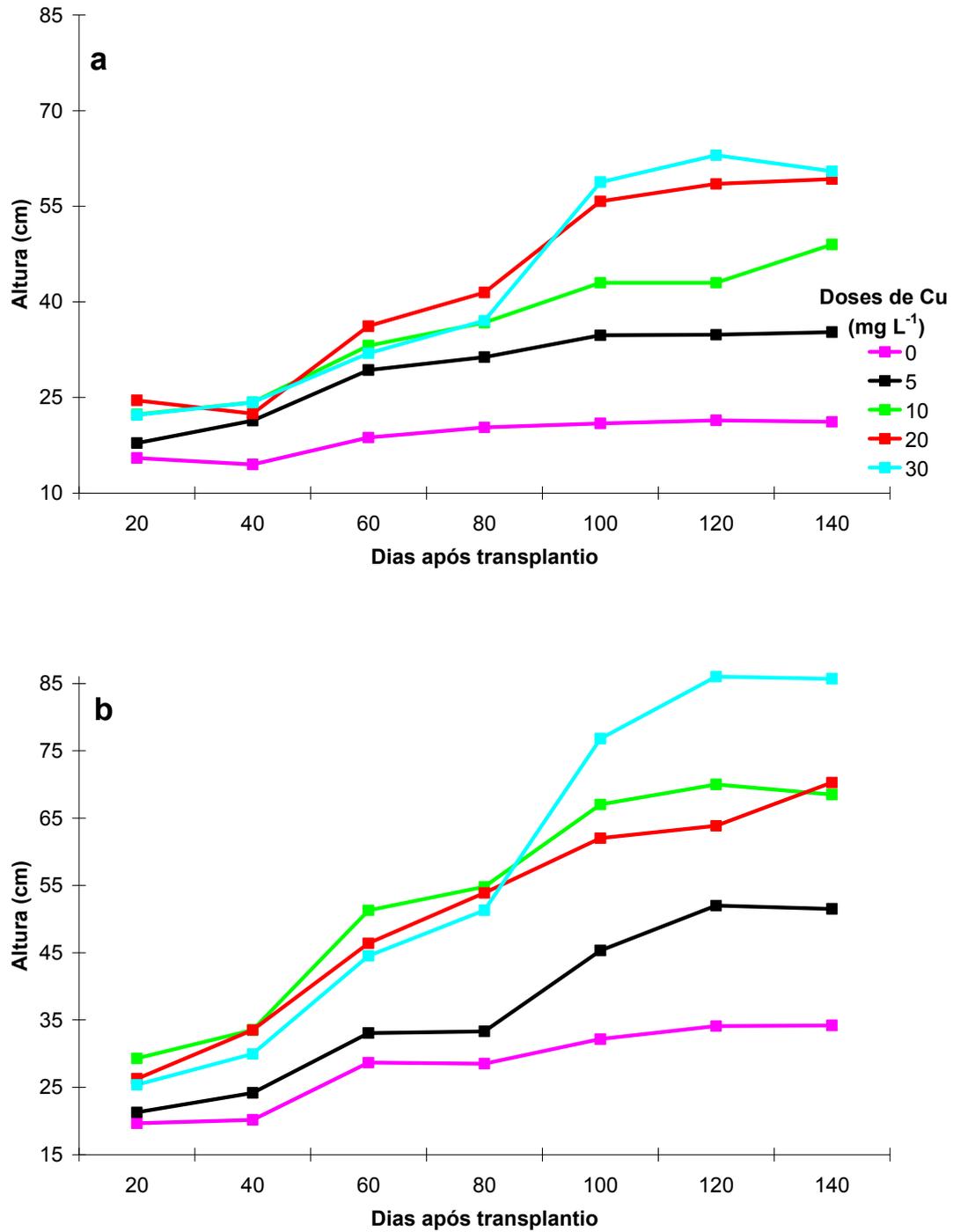


Figura 2. Altura das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando casca de pinus como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

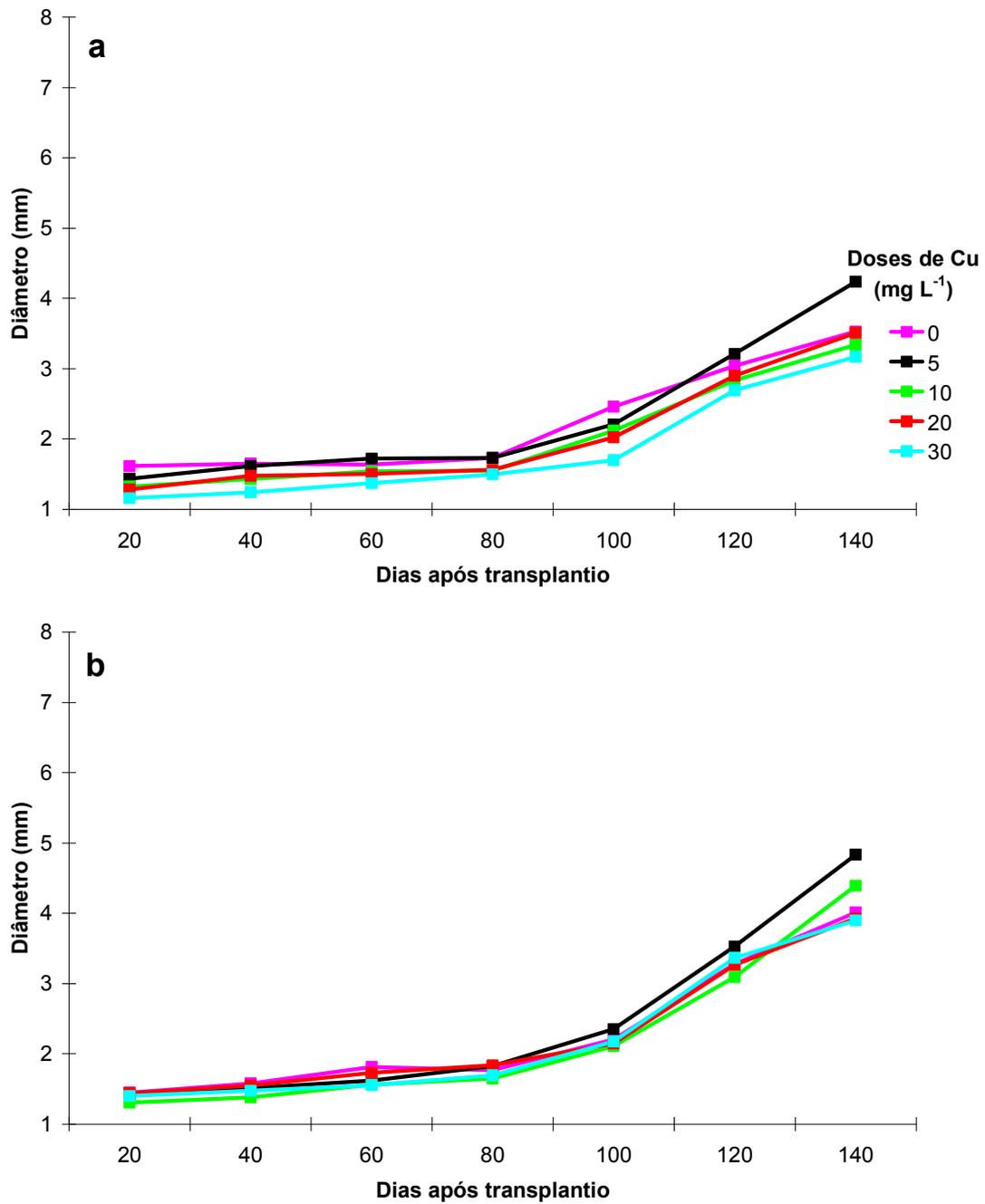


Figura 3. Diâmetro do caule das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando fibra de coco como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

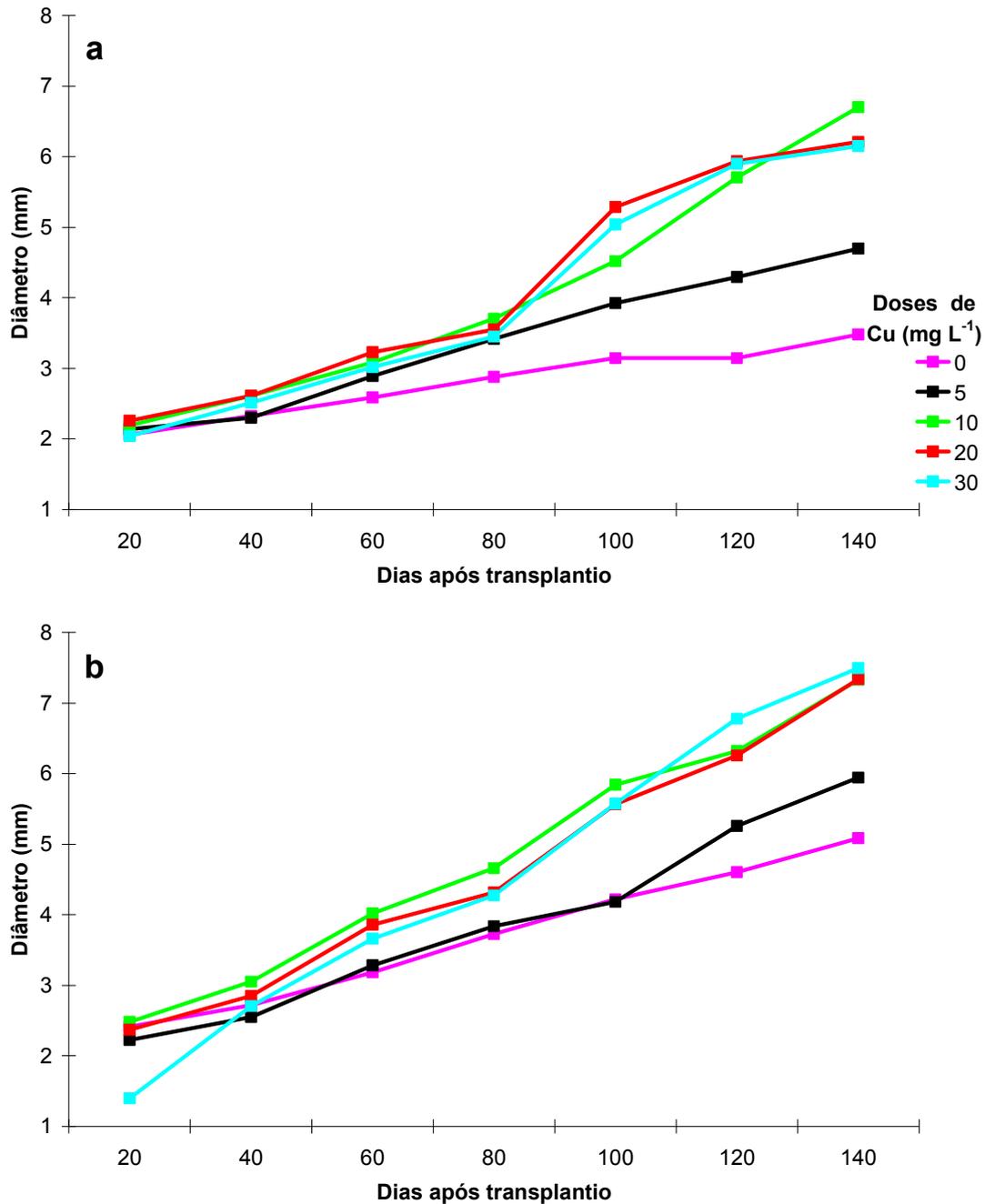


Figura 4. Diâmetro do caule das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando casca de pinus como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

4.1.2 Variáveis de Crescimento

Independentemente da inoculação de FMAs, a altura das plantas crescidas na casca de pinus superou significativamente a obtida na fibra de coco a partir da aplicação de 10 mg L⁻¹ de Cu (Tabela 7). Em todas as doses de Cu adicionadas, os maiores valores de diâmetro do caule e de MFR também foram obtidas nas plantas que

se desenvolveram em tal substrato, que diferiram estatisticamente das crescidas na fibra de coco (Tabela 7). Tanto plantas micorrizadas como não micorrizadas que se desenvolveram na casca de pinus apresentaram maior altura e diâmetro do caule quando comparadas às que cresceram na fibra de coco (Tabela 8).

Tabela 7. Altura, Diâmetro do Caule e Massa da Matéria Fresca da Raiz (MFR) de plantas de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo.

Doses de Cu	Altura	
	CP	FC
mg L ⁻¹	cm	cm
0	27,67 a*	32,38 a
5	43,38 a	43,63 a
10	58,75 a	37,71 b
20	64,77 a	34,00 b
30	73,09 a	30,59 b

Doses de Cu	Diâmetro do Caule	
	CP	FC
mg L ⁻¹	mm	mm
0	4,28 a	3,77 b
5	5,32 a	4,53 b
10	7,02 a	3,87 b
20	6,78 a	3,72 b
30	6,82 a	3,53 b

Doses de Cu	Massa da Matéria Fresca da Raiz	
	CP	FC
mg L ⁻¹	g	g
0	7,68 a	4,64 b
5	8,34 a	7,68 b
10	16,59 a	4,95 b
20	15,75 a	4,81 b
30	16,43 a	4,08 b

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 8. Altura e Diâmetro do Caule de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo.

Substrato de Cultivo	Altura	
	CF	SF
	cm	cm
CP	62,02 a*	45,04 a
FC	38,73 b	32,59 b

Substrato de Cultivo	Diâmetro do Caule	
	CF	SF
	mm	mm
CP	6,64 a	5,45 a
FC	4,21 b	3,56 b

*Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Independentemente do substrato, a MFR nas plantas micorrizadas apresentou resposta linear ascendente com o aumento das doses de Cu adicionadas, enquanto nas não micorrizadas a resposta foi quadrática, com ponto de máximo na dose 19,6 mg L⁻¹ de Cu aplicado. A micorrização das plantas causou aumento significativo na produção da matéria fresca da raiz, em relação às plantas não micorrizadas, nas doses de Cu aplicadas com exceção da dose 20 mg L⁻¹ (Figura 5a).

A MSPA das mudas que se desenvolveram na casca de pinus apresentou resposta quadrática. Nas plantas micorrizadas, o ponto de máxima resposta ocorreu na dose 26,80 mg L⁻¹ de Cu enquanto que nas não micorrizadas, na dose 19,10 mg L⁻¹ (Figura 5b). A MSPA das plantas micorrizadas e não micorrizadas crescidas na fibra de coco não apresentaram ajuste significativo. As plantas crescidas no substrato a base de casca de pinus apresentaram maior MSPA que as obtidas na fibra de coco, com exceção da dose 5 mg L⁻¹ de Cu. Além disso, a micorrização das plantas crescidas na casca de pinus promoveu aumento significativo nos valores de MSPA em relação às plantas não micorrizadas, em todas as doses de Cu aplicadas.

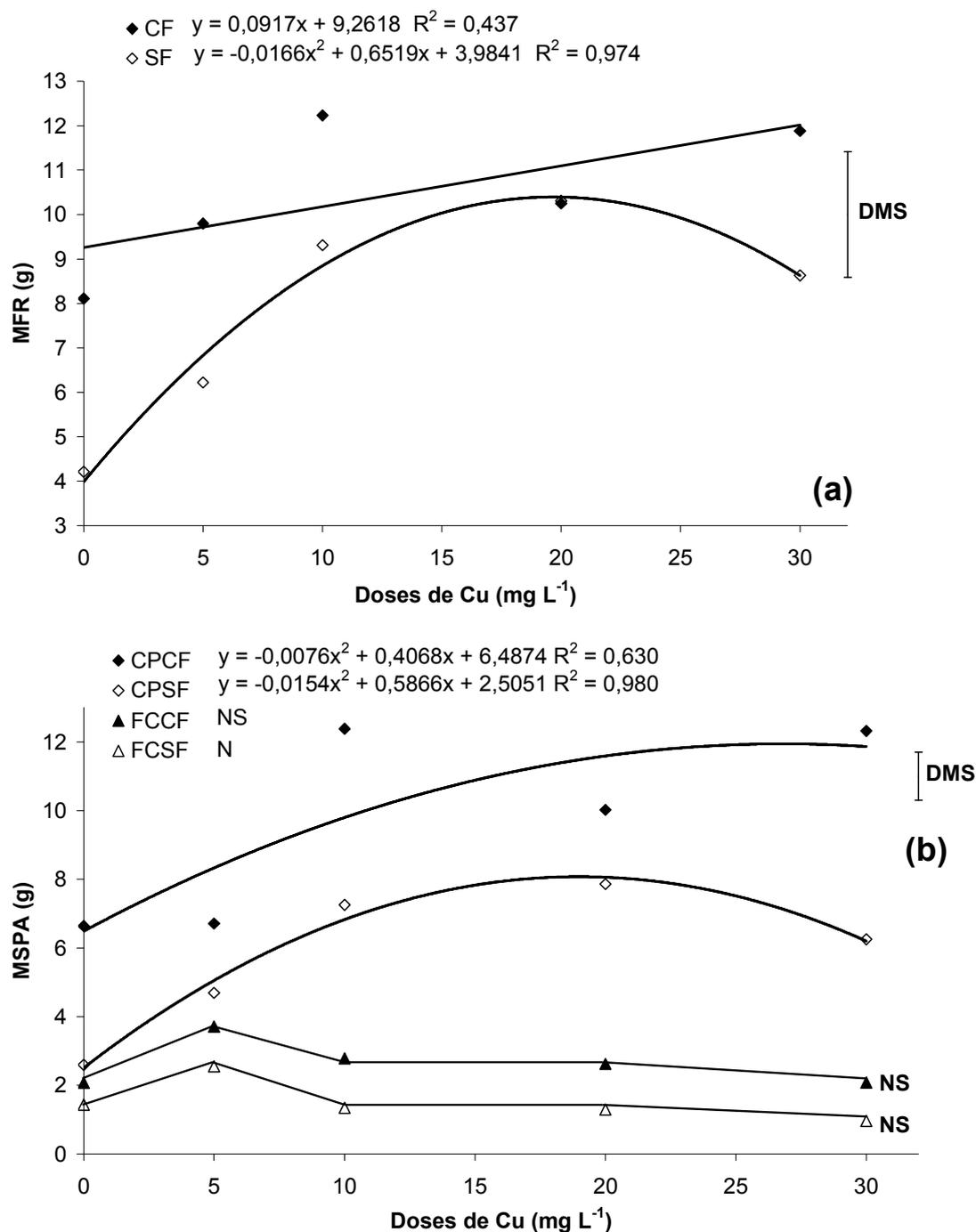


Figura 5. Massa da Matéria Fresca da Raiz (MFR) (a) e Massa da Matéria Seca da parte aérea (MSPA) (b) de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

4.1.3 Variáveis Fisiológicas

O teor de clorofila *a* nas folhas das plantas de limoeiro ‘Cravo’ mostrou que houve resposta quadrática, com ponto de máxima na dose 16,83 mg L⁻¹ de Cu nas

plantas não micorrizadas crescidas na casca de pinus e 16,95 mg L⁻¹ de Cu nas micorrizadas cultivadas na fibra de coco. Para as plantas micorrizadas desenvolvidas na casca de pinus e não micorrizadas na fibra de coco não houve ajuste significativo. Nas maiores doses de Cu aplicadas (20 e 30 mg L⁻¹), plantas micorrizadas cultivadas em casca de pinus não diferiram das micorrizadas crescidas em fibra de coco quanto ao teor desse pigmento, sendo que, nas outras doses foi superior nas plantas crescidas na fibra de coco. O teor de clorofila *a* nas plantas não micorrizadas, independentemente do substrato de cultivo, foi semelhante quando o cobre não foi aplicado e nas doses 10 e 30 mg L⁻¹ de Cu. Para as demais doses, nas plantas desenvolvidas em casca de pinus, o teor foi maior (Figura 6a). O teor de clorofila *b* (Figura 6b) e *a+b* (Figura 6c) apenas não mostraram ajuste significativo nas plantas não micorrizadas desenvolvidas na fibra de coco. Em todos os demais tratamentos mostrou resposta quadrática acerca dessas variáveis. Para a clorofila *b* obteve-se ponto de máxima em 16,35 mg L⁻¹ de Cu nas plantas micorrizadas e 17,48 mg L⁻¹ de Cu nas não micorrizadas crescidas na casca de pinus, e 16,78 mg L⁻¹ de Cu nas micorrizadas cultivadas em fibra de coco. Plantas micorrizadas crescidas em fibra de coco diferiram das da casca de pinus nas doses 5 e 10 mg L⁻¹, com as primeiras mostrando teores superiores. Quando o *Glomus intraradices* não foi inoculado, as plantas desenvolvidas na casca de pinus foram significativamente superiores nas doses 5, 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu. Para o teor de clorofila *a+b*, as doses de Cu adicionadas ao substrato que resultaram nos maiores valores foram 17,08 mg L⁻¹ de Cu para as plantas micorrizadas, 17,34 mg L⁻¹ para as não micorrizadas crescidas na casca de pinus e 16,82 mg L⁻¹ para as micorrizadas cultivadas em fibra de coco. Nas doses 5 e 20 mg L⁻¹ de Cu, plantas micorrizadas cultivadas em fibra de coco foram significativamente superiores às não micorrizadas, e estas inferiores às também não micorrizadas e cultivadas na casca de pinus. Nas doses 5 e 10 mg L⁻¹ plantas micorrizadas e que se desenvolveram em fibra de coco apresentaram maiores teores de clorofila *a+b* quando comparadas às micorrizadas cultivadas em casca de pinus.

Quanto ao teor de carotenóides (Tabela 9), somente no tratamento que não recebeu Cu, as plantas desenvolvidas na fibra de coco apresentaram maior teor que as crescidas em casca de pinus. Ao se considerar a micorrização (Tabela 10), a resposta variou com o substrato, sendo que na fibra de coco as plantas micorrizadas superaram as não micorrizadas e no substrato à base de casca de pinus, as não micorrizadas apresentaram maior teor de carotenóides.

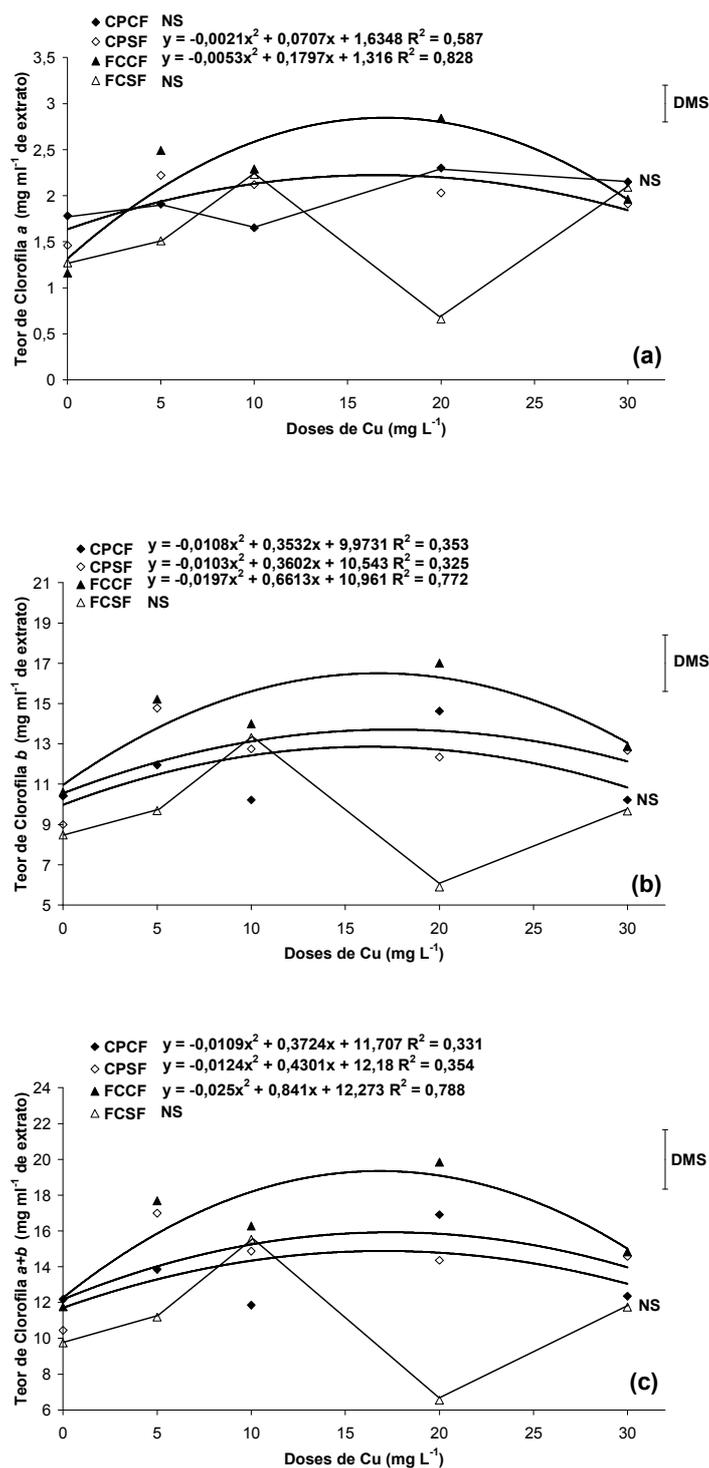


Figura 6. Teores de clorofila a (a), clorofila b (b) e clorofila a+b (c) em folhas de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

Tabela 9. Teor de carotenóides em folhas de plantas de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo.

Doses de Cu (mg L ⁻¹)	CP	FC
	µg ml ⁻¹ de extrato	µg ml ⁻¹ de extrato
0	402,88 b*	522,52 a
5	549,49 a	588,84 a
10	464,30 a	528,18 a
20	540,77 a	616,22 a
30	567,05 a	539,63 a

*Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 10. Teor de carotenóides em folhas de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo.

Substrato de Cultivo	CF	SF
	µg ml ⁻¹ de extrato	µg ml ⁻¹ de extrato
CP	481,10 b*	528,69 a
FC	646,16 a	471,99 b

*Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A atividade da enzima redutase do nitrato (RN) mostrou que não houve ajuste significativo nas plantas micorrizadas desenvolvidas no substrato casca de pinus, enquanto que, nas plantas não micorrizadas a resposta foi quadrática, com aumento da atividade dessa enzima a partir da dose 13,18 mg L⁻¹ de Cu. Nas plantas micorrizadas crescidas em fibra de coco a atividade dessa enzima mostrou uma resposta linear descendente com o aumento das doses de Cu aplicadas ao substrato enquanto que nas não micorrizadas resposta quadrática com pico na dose 12,75 mg L⁻¹ de Cu adicionado. No substrato à base de casca de pinus não houve diferenças significativas entre as plantas micorrizadas e não micorrizadas. As plantas cultivadas no substrato fibra de coco apresentaram maior atividade da RN que as obtidas na casca de pinus (Figura 7).

A atividade da enzima fosfatase ácida (FA) (Figura 8) foi estatisticamente superior nas plantas que tiveram a casca de pinus como substrato de cultivo quando comparadas àquelas crescidas em fibra de coco. Quanto às doses de Cu adicionadas (Figura 9), a enzima FA apresentou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 16,99 mg L⁻¹ de Cu aplicado (Figura 10). Todavia, os maiores valores para essa variável foram encontrados quando não se adicionou o Cu (0 mg L⁻¹), ou seja, a atividade da enzima diminuiu com a adição de Cu. Além disso, a micorrização influenciou

significativamente a atividade da fosfatase ácida, sendo que as plantas micorrizadas superaram as não micorrizadas.

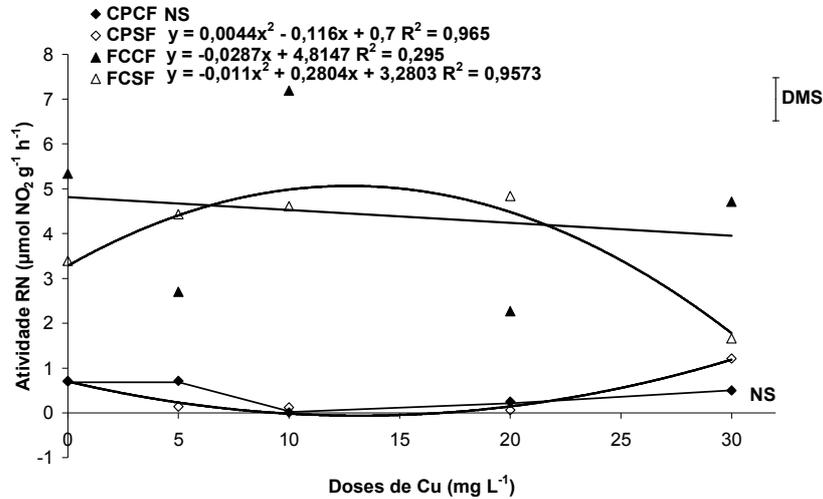


Figura 7. Atividade da enzima Redutase do Nitrato (RN) em folhas de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

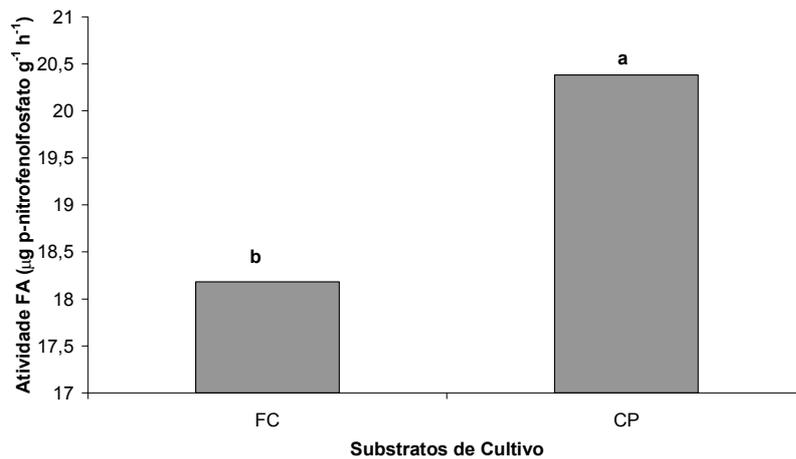


Figura 8. Atividade da enzima Fosfatase Ácida (FA) em folhas de plantas de limoeiro ‘Cravo’ utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

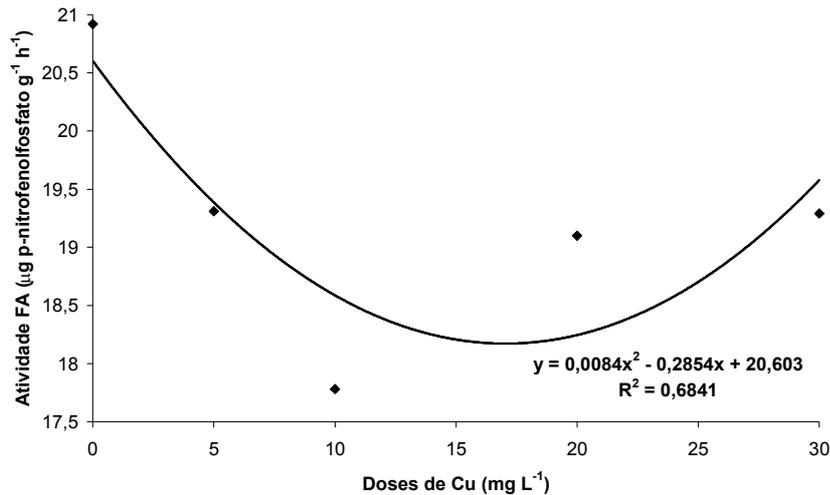


Figura 9. Atividade da enzima Fosfatase Ácida (FA) em folhas de plantas de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu.

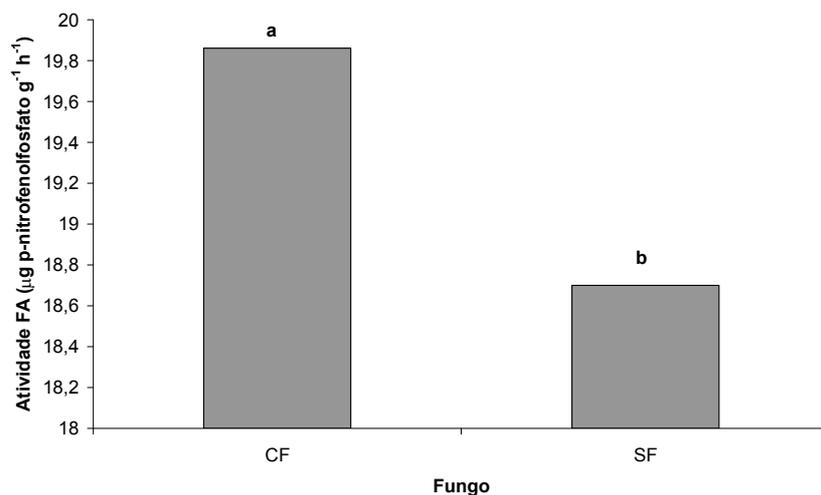


Figura 10. Atividade da enzima Fosfatase Ácida (FA) em folhas de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.1.4 Teor de Nutrientes da Parte Aérea

Dentre os macronutrientes, o teor de N da parte aérea das mudas micorrizadas submetidas ao substrato casca de pinus apresentou resposta linear descendente em relação à adição de doses crescentes de Cu, enquanto que as não micorrizadas mostrou uma resposta quadrática, com ponto de mínima na dose 21,32 mg L⁻¹ de Cu aplicado. Nas plantas micorrizadas que tiveram a fibra de coco como substrato, a resposta foi quadrática com ponto de máxima na dose 20,52 mg L⁻¹, enquanto que nas não

micorrizadas não houve ajuste significativo, ou seja, não variou com as doses de Cu aplicadas. Sem a adição de Cu, o maior teor foi mostrado nas plantas crescidas na casca de pinus. Entretanto, com a adição das doses mais altas de Cu houve inversão, ou seja, nas plantas crescidas na fibra de coco o teor foi maior (Figura 11a).

Quanto ao teor de K da parte aérea (Figura 11b), nas plantas micorrizadas e não micorrizadas desenvolvidas na fibra de coco a resposta foi linear ascendente com o aumento das doses de Cu aplicadas. O teor de K nas plantas que tiveram a casca de pinus como substrato mostrou resposta quadrática descendente com as doses crescentes de Cu, com menor teor na dose 30 mg L⁻¹ de Cu. Ao se comparar as plantas crescidas na fibra de coco tem-se que diferiram entre si apenas na dose 5 mg L⁻¹, com as plantas não micorrizadas superando as micorrizadas. Ainda, apresentaram maiores teores de K que as plantas crescidas em casca de pinus. De forma geral, o comportamento das plantas não micorrizadas e micorrizadas crescidas em um mesmo substrato de cultivo apresentaram a mesma tendência de resposta quanto ao teor desse macronutriente.

O teor de P da parte aérea (Figura 11c) nas plantas micorrizadas e não micorrizadas cultivadas no substrato casca de pinus apresentou resposta quadrática, com pontos de mínima, respectivamente, nas doses 24,67 mg L⁻¹ e 21 mg L⁻¹ de Cu. Para as plantas cultivadas na fibra de coco, independentemente da micorrização, não houve ajuste significativo. No substrato casca de pinus, as plantas não micorrizadas tiveram maior teor de P que as micorrizadas em todas as doses de Cu adicionadas. Na fibra de coco, as plantas micorrizadas apresentaram significativamente maior teor de P que as não micorrizadas, nas doses 0, 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu adicionado.

Na figura 12a, o teor de Ca nas plantas cultivadas na casca de pinus, independentemente da micorrização, apresentou resposta quadrática, com ponto de mínima em 35,68 mg L⁻¹ para as micorrizadas e 25,60 mg L⁻¹ de Cu para as não micorrizadas. Nas plantas que se desenvolveram na fibra de coco não houve ajuste significativo. No substrato casca de pinus, as plantas não micorrizadas superaram as micorrizadas nas doses 0, 5 e 20 mg L⁻¹ de Cu aplicado. Sem levar em conta o efeito da micorrização, as plantas crescidas na casca de pinus superaram àquelas crescidas na fibra de coco em todas as doses de Cu, embora as maiores diferenças tenham sido obtidas até a dose 10 mg L⁻¹.

O teor de Mg da parte aérea nas plantas micorrizadas crescidas em casca de pinus não apresentou ajuste significativo e, nas não micorrizadas, mostrou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 21,70 mg L⁻¹ de Cu. O teor nas plantas

micorrizadas e cultivadas na fibra de coco apresentou resposta linear ascendente em relação à adição de Cu, enquanto que nas não micorrizadas o ajuste não foi significativo. Apenas na dose 30 mg L⁻¹, as plantas micorrizadas apresentaram maior teor de Mg que as não micorrizadas. Ao se comparar plantas micorrizadas entre os substratos nota-se que as que se desenvolveram em casca de pinus apresentaram maiores teores de magnésio até a dose 10 mg L⁻¹, diferindo estatisticamente das crescidas na fibra de coco (Figura 12b).

O teor de enxofre S da parte aérea (Figura 12c) nas plantas micorrizadas cultivadas em casca de pinus apresentou resposta linear descendente enquanto que nas não micorrizadas houve uma resposta quadrática com ponto de mínima na dose 20,18 mg L⁻¹ de Cu aplicado. Os teores de S nas plantas cultivadas na fibra de coco não variaram com a adição de doses crescentes de Cu ao substrato. Na dose 30 mg L⁻¹ de Cu, o menor teor de enxofre foi observado nas plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus, que diferiu estatisticamente dos demais tratamentos.

Acerca dos micronutrientes, o teor de B da parte aérea (Figura 13a) nas plantas desenvolvidas na casca de pinus mostrou resposta linear descendente com o aumento das doses de Cu adicionadas nas micorrizadas e quadrática nas não micorrizadas, com ponto de mínima na dose 22,86 mg L⁻¹ de Cu aplicado. O teor de B nas plantas micorrizadas que tiveram a fibra de coco como substrato de cultivo apresentou resposta quadrática aumentando a partir da dose 11,04 mg L⁻¹ de Cu aplicado, enquanto que, o teor de B nas plantas não micorrizadas não variou com as doses de Cu aplicadas ao substrato. As plantas não micorrizadas cultivadas na casca de pinus apresentaram maior teor de B na parte aérea que as micorrizadas, em todas as doses, exceto na de 10 mg L⁻¹. Na dose 30 mg L⁻¹ plantas micorrizadas crescidas em fibra de coco mostraram o maior teor desse micronutriente, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

O teor de Cu da parte aérea nas plantas crescidas no substrato casca de pinus, tanto não micorrizadas como micorrizadas, mostrou resposta linear ascendente com o aumento das doses de Cu aplicadas. Quanto às plantas cultivadas na fibra de coco, independentemente da micorrização, houve resposta quadrática, com pico de máxima na dose 22,97 mg L⁻¹ para as micorrizadas e 48,22 mg L⁻¹ de Cu para as não micorrizadas. Tais plantas diferiram entre si em todas as doses de Cu, exceto nas mais elevadas, sendo que as micorrizadas apresentaram os maiores teores de Cu. As plantas crescidas na fibra de coco sempre apresentaram teores de Cu maiores que desenvolvidas em casca de pinus. Com exceção do tratamento onde o Cu não foi aplicado (0 mg L⁻¹), em todas as

demais doses, o teor de Cu nas plantas não micorrizadas crescidas em casca de pinus superou o das micorrizadas (Figura 13b).

O teor de Fe da parte aérea (Figura 13c) mostrou uma resposta quadrática com pico na dose 22,20 mg L⁻¹ nas plantas micorrizadas crescidas na casca de pinus e uma resposta linear ascendente com as doses crescentes de Cu aplicadas ao substrato nas não micorrizadas. Nas plantas não micorrizadas que se desenvolveram na fibra de coco o teor de Fe mostrou resposta quadrática com pico de mínima na dose 18,97 mg L⁻¹ de Cu e nas micorrizadas não houve ajuste significativo.

O teor de Mn (Figura 14a) nas plantas micorrizadas crescidas no substrato casca de pinus apresentou resposta linear descendente com o aumento das doses de Cu adicionadas, sendo que nas não micorrizadas e nas desenvolvidas na fibra de coco, independentemente da micorrização, não houve ajuste significativo. Na casca de pinus, as plantas micorrizadas mostraram um teor de Mn significativamente menor que as não micorrizadas, em todas as doses de Cu aplicadas, exceto na 5 mg L⁻¹ de Cu. As plantas cultivadas na casca de pinus tiveram maior teor de Mn que as obtidas na fibra de coco.

O teor de Zn (Figura 14b) nas plantas de todos os tratamentos apresentou resposta quadrática, sendo que diminuiu com a adição de Cu. Nas plantas micorrizadas crescidas em casca de pinus mostrou ponto de mínima em 35,64 mg L⁻¹ e nas não micorrizadas em 20,98 mg L⁻¹ de Cu aplicado. Na fibra de coco, nas plantas micorrizadas mostrou ponto de mínima em 26,64 mg L⁻¹ enquanto que nas não micorrizadas em 18,96 mg L⁻¹ de Cu. A partir de 20 mg L⁻¹ de Cu aplicado, as plantas micorrizadas, independentemente do substrato, tiveram aumento do teor desse nutriente.

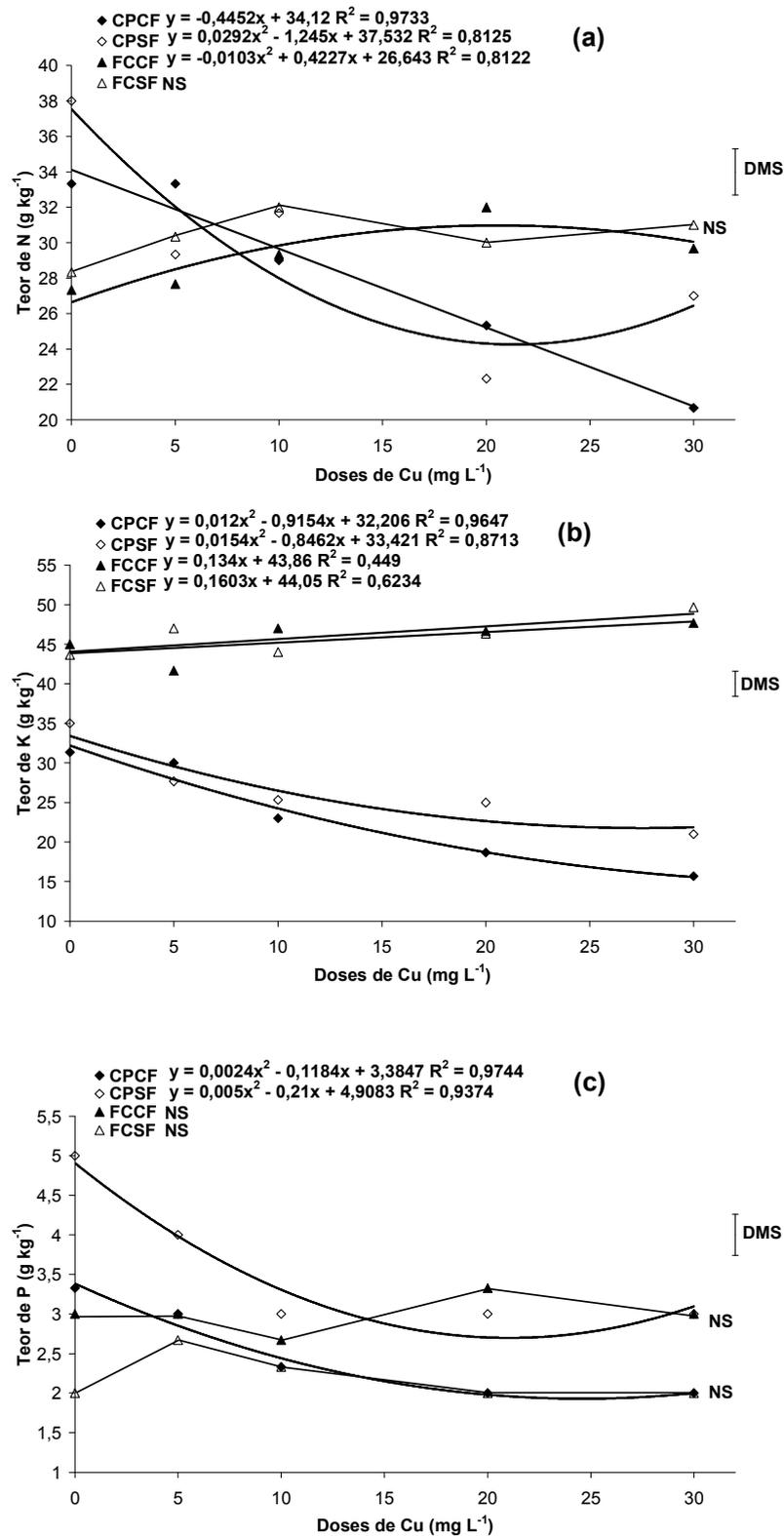


Figura 11. Teor de Nitrogênio (N) (a), Potássio (K) (b) e Fósforo (P) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

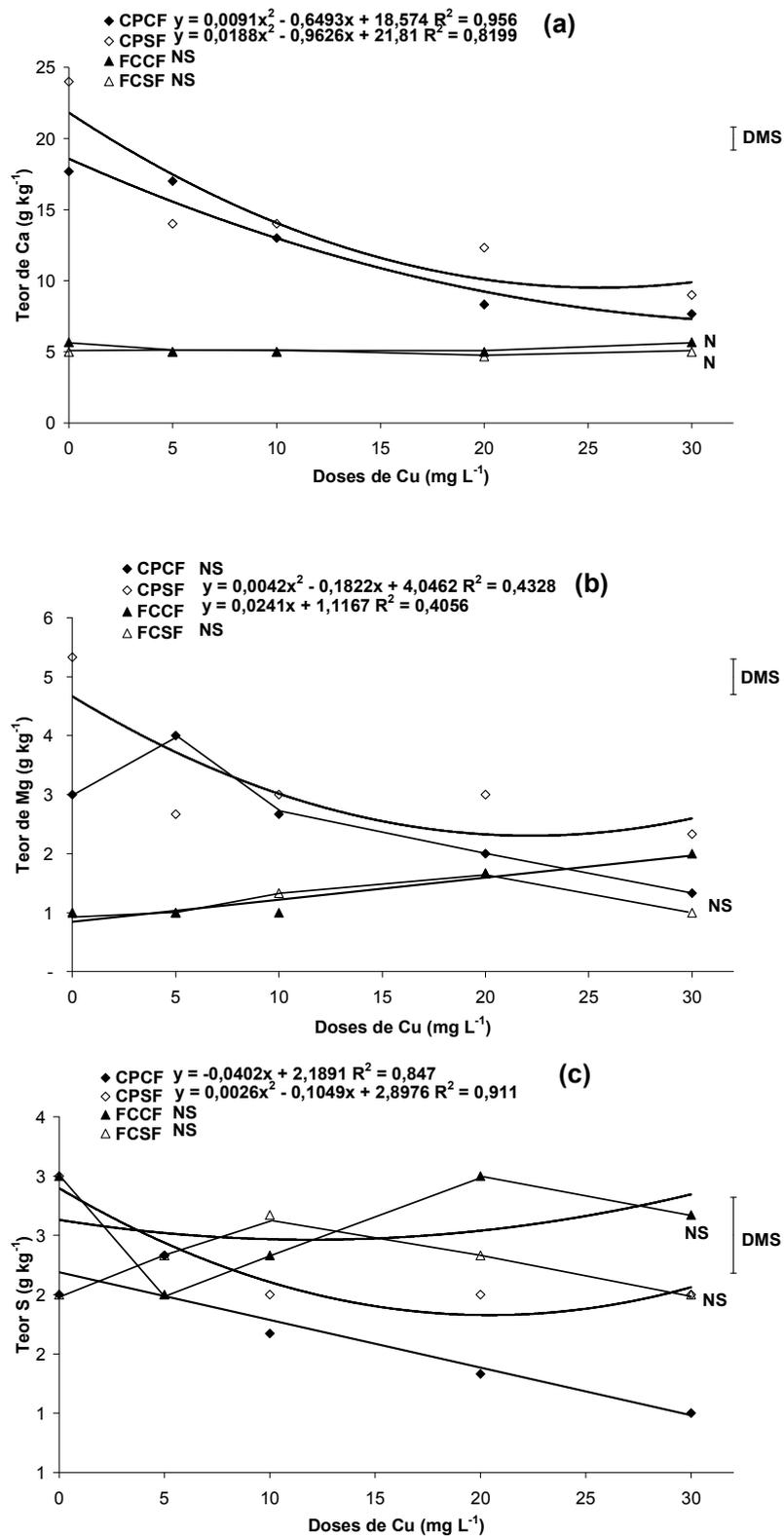


Figura 12. Teor de Cálcio (Ca) (a), Magnésio (Mg) (b) e Enxofre (S) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

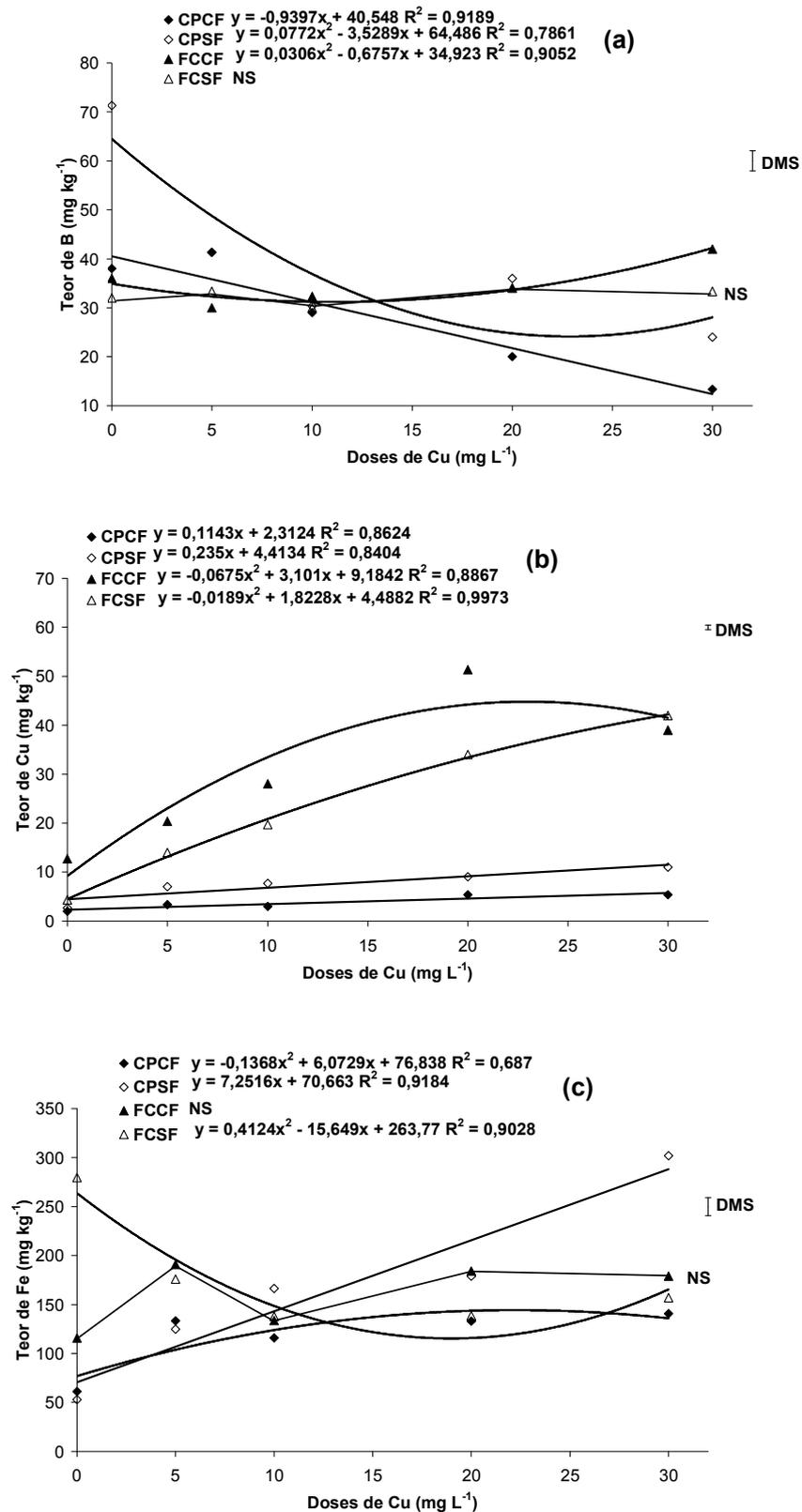


Figura 13. Teor de Boro (B) (a), Cobre (Cu) (b) e Ferro (Fe) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

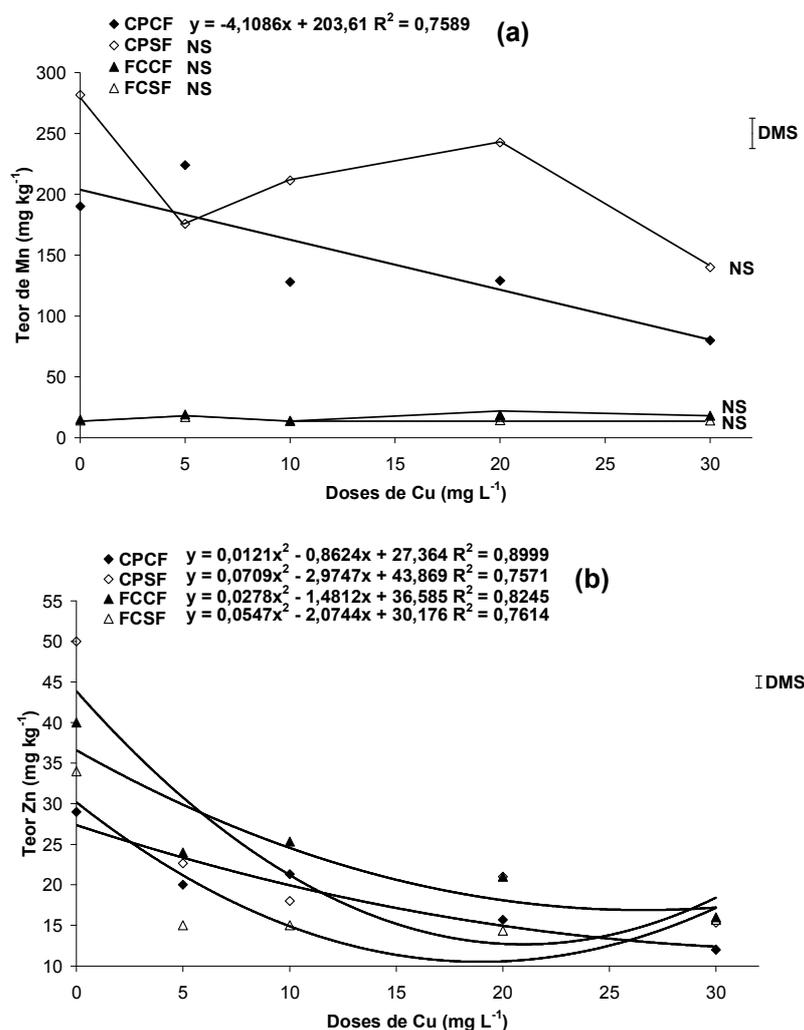


Figura 14. Teor de Manganês (Mn) (a) e Zinco (Zn) (b) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

4.1.5 Quantidade Acumulada de nutrientes na Parte Aérea

A quantidade acumulada de N na parte aérea (Figura 15a) nas plantas micorrizadas crescidas na casca de pinus apresentou resposta quadrática com pico na dose 14,12 mg L⁻¹ de Cu, enquanto que nas não micorrizadas o pico ocorreu na dose 17,19 mg L⁻¹ de Cu aplicado ao substrato. O acúmulo de N nas plantas micorrizadas cultivadas na fibra de coco apresentou resposta quadrática, com pico na dose 13,16 mg L⁻¹ de Cu aplicado e nas plantas não micorrizadas não houve ajuste significativo. As

plantas obtidas na casca de pinus apresentaram maior acúmulo de N na parte aérea que as cultivadas na fibra de coco. Em ambos os substratos, as plantas micorrizadas tiveram maior acúmulo de N que as não micorrizadas.

A quantidade de K acumulada na parte aérea (Figura 15b) das plantas micorrizadas cultivadas em casca de pinus apresentou resposta linear descendente em relação à adição de Cu, enquanto que nas não micorrizadas houve resposta quadrática com pico na dose de 17,83 mg L⁻¹. O acúmulo de K nas plantas micorrizadas cultivadas em fibra de coco apresentou resposta quadrática, com pico na dose 11,92 mg L⁻¹ de Cu e nas não micorrizadas não houve ajuste significativo, ou seja, não variou com a dose de Cu aplicada. Quando o Cu não foi aplicado ao substrato, e nas doses 5 e 10 mg L⁻¹ as plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus, acumularam significativamente mais K na parte aérea que as plantas dos demais tratamentos. Nas maiores doses de Cu aplicadas (20 e 30 mg L⁻¹) as plantas micorrizadas e não micorrizadas não diferiram entre si. Já no substrato fibra de coco, as plantas micorrizadas superaram as não micorrizadas em todas as doses de Cu.

A quantidade acumulada de P nas plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus apresentou resposta linear descendente com as doses crescentes de Cu e as não micorrizadas, a resposta foi quadrática com pico na dose 15,95 mg L⁻¹ de Cu (Figura 15c). No substrato casca de pinus, as plantas micorrizadas apresentaram valores superiores de fósforo acumulado que as não micorrizadas, exceto na dose 20 mg L⁻¹. Nas plantas micorrizadas desenvolvidas na fibra de coco houve resposta quadrática com pico na dose 12,16 mg L⁻¹ enquanto que nas não micorrizadas não houve ajuste significativo. As plantas micorrizadas sempre superaram as não micorrizadas, em todas as doses de Cu aplicadas. As plantas crescidas na casca de pinus, independentemente da micorrização, tiveram significativamente maior acúmulo de P na parte aérea.

O acúmulo de Ca (Figura 16a) e de Mg (Figura 16b) na parte aérea de plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus mostrou resposta linear descendente com o aumento das doses de Cu aplicadas ao substrato, enquanto que nas plantas não micorrizadas houve resposta quadrática com pico na dose 15,60 mg L⁻¹ de Cu para o Ca e de 16,44 mg L⁻¹ de Cu para o Mg. Nas plantas micorrizadas e não micorrizadas crescidas na fibra de coco, o acúmulo de Ca não variou com as doses de Cu adicionadas ao substrato. No substrato casca de pinus, as plantas micorrizadas acumularam significativamente mais Ca e Mg que as não micorrizadas nas doses 0, 5 e 10 mg L⁻¹ de Cu e ambas superaram as plantas cultivadas no substrato à base de fibra de coco.

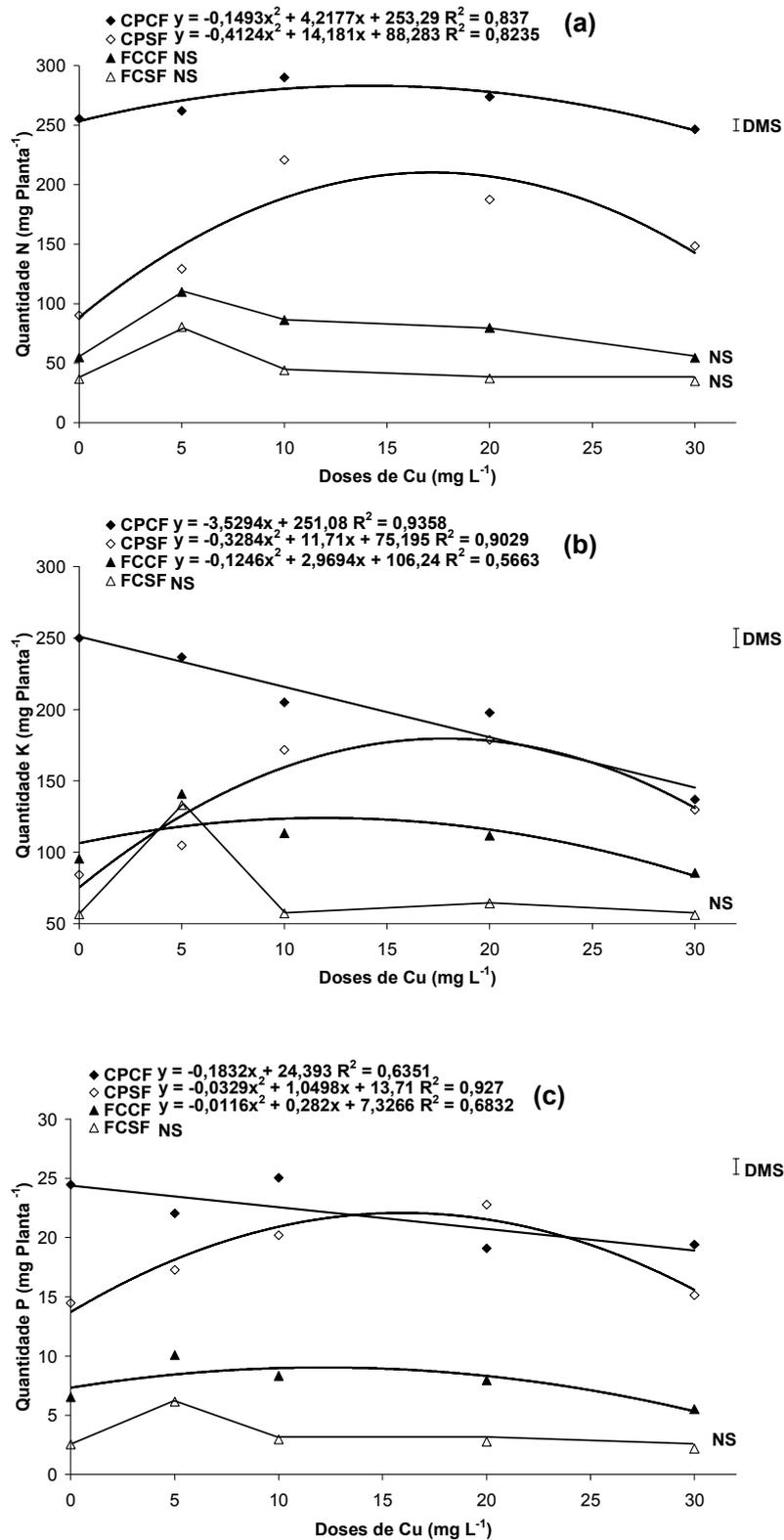


Figura 15. Quantidade Acumulada de Nitrogênio (N) (a), Potássio (K) (b) e Fósforo (P) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

A quantidade acumulada de S na parte aérea (Figura 16c), plantas não micorrizadas e micorrizadas que tiveram a casca de pinus como substrato de cultivo mostrou resposta quadrática, sendo que nas não micorrizadas o pico foi na dose 15,42 mg L⁻¹ de Cu. As plantas micorrizadas superaram as não micorrizadas nas doses 0, 5 e 10 mg L⁻¹ de Cu. Nas plantas que cresceram na fibra de coco também a resposta foi quadrática, com pico na dose 13,44 mg L⁻¹ de Cu para as micorrizadas e na dose 6,18 mg L⁻¹ de Cu para as não micorrizadas. As plantas micorrizadas superaram significativamente as não micorrizadas em todas as doses de Cu aplicadas.

A quantidade acumulada de B nas plantas micorrizadas que tiveram a casca de pinus como substrato de cultivo mostrou resposta linear descendente com as doses crescentes de Cu aplicadas no substrato e nas não micorrizadas, resposta quadrática com pico na dose 15,46 mg L⁻¹ de Cu (Figura 17a). Nas plantas micorrizadas cultivadas na fibra de coco o acúmulo de B apresentou resposta quadrática com pico na dose 14,09 mg L⁻¹ de Cu. Na fibra de coco, em todas as as doses de Cu aplicadas, as plantas micorrizadas tiveram significativamente maior acúmulo de B que as não micorrizadas, enquanto que na casca de pinus esse efeito ocorreu somente nas doses 0, 5 e 10 mg L⁻¹ de Cu. As plantas obtidas na casca de pinus tiveram maior acúmulo de B que nas cultivadas na fibra de coco. O menor acúmulo desse micronutriente foi observado nas plantas não micorrizadas crescidas na fibra de coco, que diferiu estatisticamente dos demais tratamentos.

O acúmulo de Cu na parte aérea das plantas mostrou ajuste quadrático com pico na dose 25,00 mg L⁻¹ de Cu nas micorrizadas e de 45,80 mg L⁻¹ de Cu nas não micorrizadas, no substrato casca de pinus, e no substrato fibra de coco, pico na dose 21,51 mg L⁻¹ para as plantas micorrizadas e 20,83 mg L⁻¹ de Cu para as não micorrizadas. Com exceção do tratamento onde o Cu não foi aplicado (0 mg L⁻¹) e na dose 10 mg L⁻¹, as plantas micorrizadas cultivadas na fibra de coco diferiram estatisticamente das demais, apresentado maior acúmulo de Cu na parte aérea (Figura 17b).

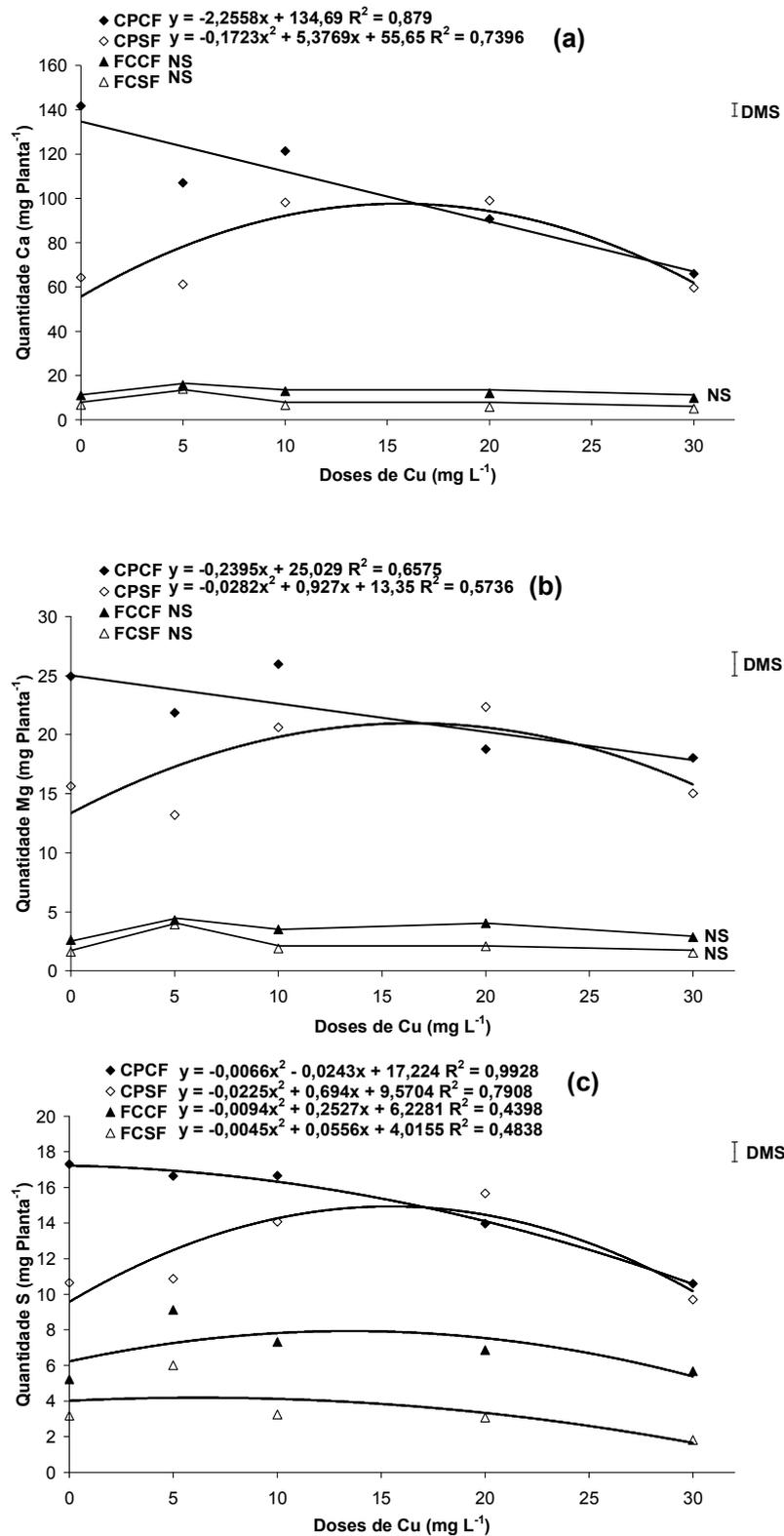


Figura 16. Quantidade Acumulada de Cálcio (Ca) (a), Magnésio (Mg) (b) e Enxofre (S) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

O Fe acumulado na parte aérea das plantas cultivadas na casca de pinus mostrou resposta quadrática, sendo nas micorrizadas com pico na dose 22,03 mg L⁻¹ e nas não micorrizadas na dose 27,53 mg L⁻¹ de Cu. Quanto às plantas crescidas no substrato fibra de coco, o Fe acumulado nas micorrizadas não mostrou ajuste significativo, ou seja, não variou com as doses de Cu aplicadas ao substrato e, nas não micorrizadas, a resposta foi linear descendente com o aumento das doses de Cu aplicadas. Considerando-se apenas o efeito dos substratos de cultivo, a partir da dose 10 mg L⁻¹, as plantas obtidas na casca de pinus apresentaram o maior acúmulo de Fe na parte aérea, diferindo estatisticamente das cultivadas na fibra de coco. As plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus superaram as não micorrizadas nas doses 0, 5 e 10 mg L⁻¹ de Cu adicionado (Figura 17c).

A quantidade acumulada de Mn na parte aérea das plantas cultivadas na fibra de coco, independentemente da micorrização, não variou com as doses de Cu adicionadas ao substrato. Nas plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus, o acúmulo de Mn apresentou resposta quadrática com pico na dose 10,41 mg L⁻¹ e nas não micorrizadas resposta quadrática com pico na dose 16,12 mg L⁻¹ de Cu aplicado ao substrato. Nas doses 0 e 5 mg L⁻¹ de Cu adicionado as plantas micorrizadas apresentaram maior acúmulo de Mn que as não micorrizadas (Figura 18a).

O teor de Zn acumulado na parte aérea das plantas mostrou resposta linear descendente em função da adição de doses crescentes de Cu nas plantas obtidas na fibra de coco e nas micorrizadas crescidas na casca de pinus. Nas plantas não micorrizadas cultivadas na casca de pinus, o ajuste foi quadrático com pico na dose 15,41 mg L⁻¹ de Cu. As plantas micorrizadas diferiram significativamente das não micorrizadas, apresentando maior acúmulo de Zn, em todas as doses de Cu adicionadas, em ambos os substratos (Figura 18b).

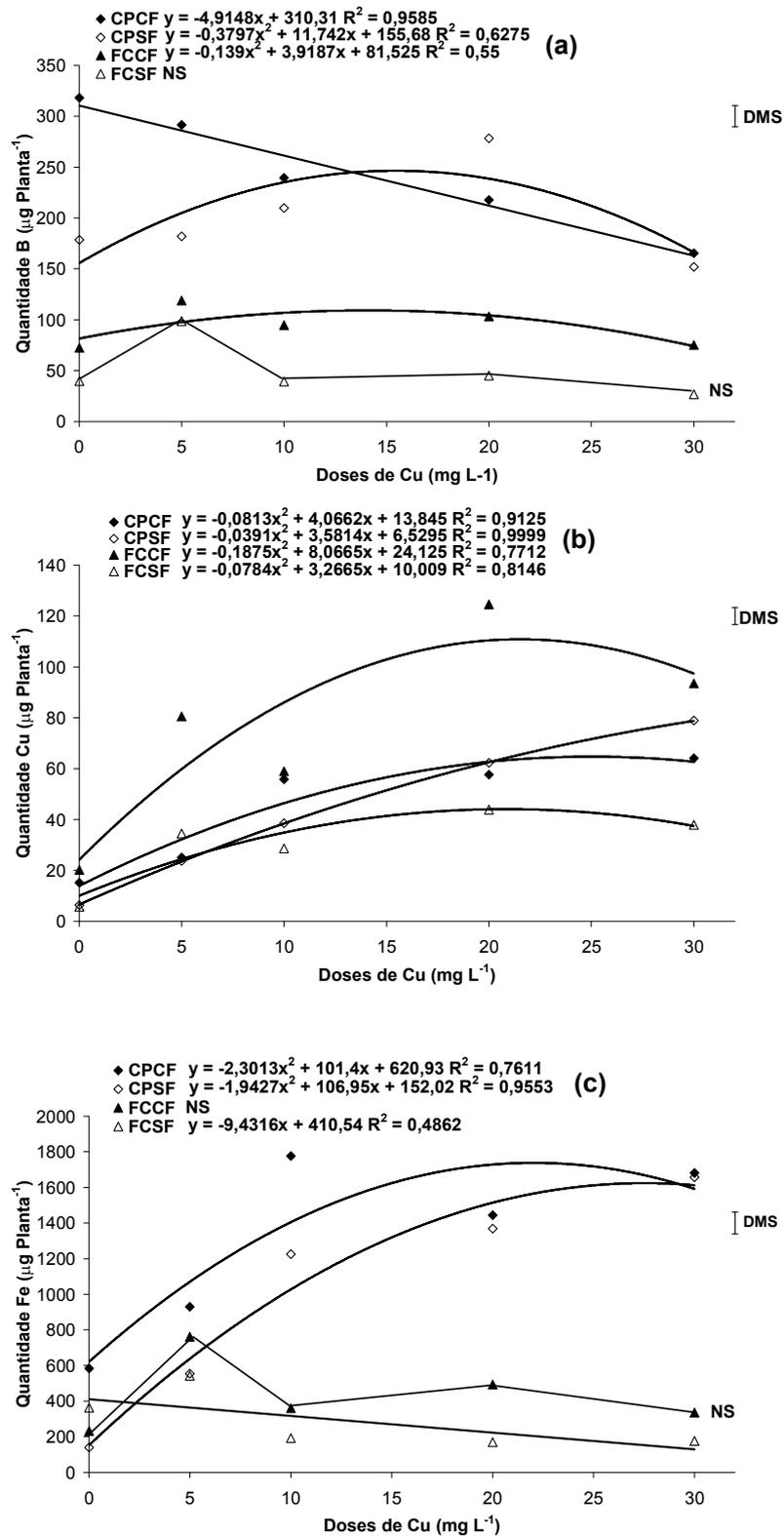


Figura 17. Quantidade Acumulada de Boro (B) (a), Cobre (Cu) (b) e Ferro (Fe) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

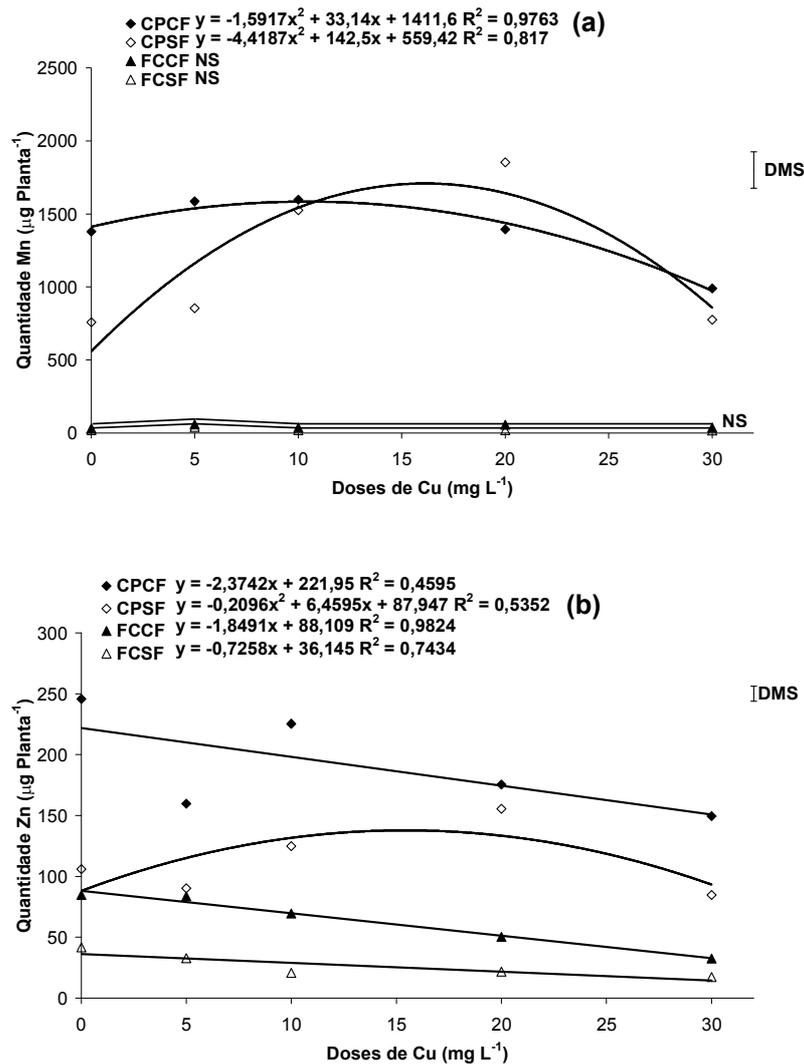


Figura 18. Quantidade Acumulada de Manganês (Mn) (a) e Zinco (Zn) (b) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

4.1.6 Índice de Eficiência de Uso (IEU)

O IEU do P (Figura 19a) nas plantas micorrizadas desenvolvidas na casca de pinus apresentou resposta linear ascendente com a adição de doses crescentes de Cu ao substrato enquanto que nas plantas não micorrizadas a resposta foi quadrática com pico na dose 19,13 mg L⁻¹ de Cu. Nas plantas micorrizadas que tiveram a fibra de coco como substrato de cultivo o IEU apresentou resposta quadrática com pico na dose 11,86 mg L⁻¹ de Cu adicionado, enquanto que, nas não micorrizadas, a resposta foi linear

descendente com a aplicação de doses crescentes de Cu no substrato. Não houve diferença estatística entre plantas micorrizadas e não micorrizadas cultivadas na fibra de coco. Com exceção da dose 5 mg L⁻¹ de Cu aplicado, para todas as demais, plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, sendo superiores quanto à variável em questão. Nas doses 10, 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu, as plantas crescidas em casca de pinus quando comparadas às plantas que se desenvolveram em fibra de coco, independentemente da micorrização, apresentaram IEU P estatisticamente superiores.

O IEU do Cu das plantas micorrizadas crescidas em casca de pinus apresentou resposta quadrática, diminuindo já com a adição de 5 mg L⁻¹ de Cu, com ponto de mínima na dose 18,30 mg L⁻¹ de Cu, enquanto que, nas plantas não micorrizadas a resposta foi linear descendente com o aumento das doses de Cu aplicadas ao substrato. Nas plantas desenvolvidas na fibra de coco, independentemente da micorrização, não houve ajuste significativo. O maior IEU do Cu foi mostrado pelas plantas micorrizadas e cultivadas na casca de pinus, que diferiu estatisticamente das não micorrizadas (Figura 19b).

4.1.7 Variáveis de Micorrização

As raízes das plantas não micorrizadas apresentaram-se isentas de colonização por *Glomus intraradices*. Nas raízes colonizadas por esse fungo, a análise de variância não mostrou efeito significativo dos substratos, nem das doses de cobre e nem da sua interação (resultados não apresentados), com média de colonização de 27%.

Os dados referentes ao comprimento do micélio externo total (MET) de *Glomus intraradices* constam da tabela 11. Com exceção da dose 5 mg L⁻¹ de Cu, onde os tratamentos não diferiram entre si. Os valores do MET foram significativamente superiores no substrato fibra de coco.

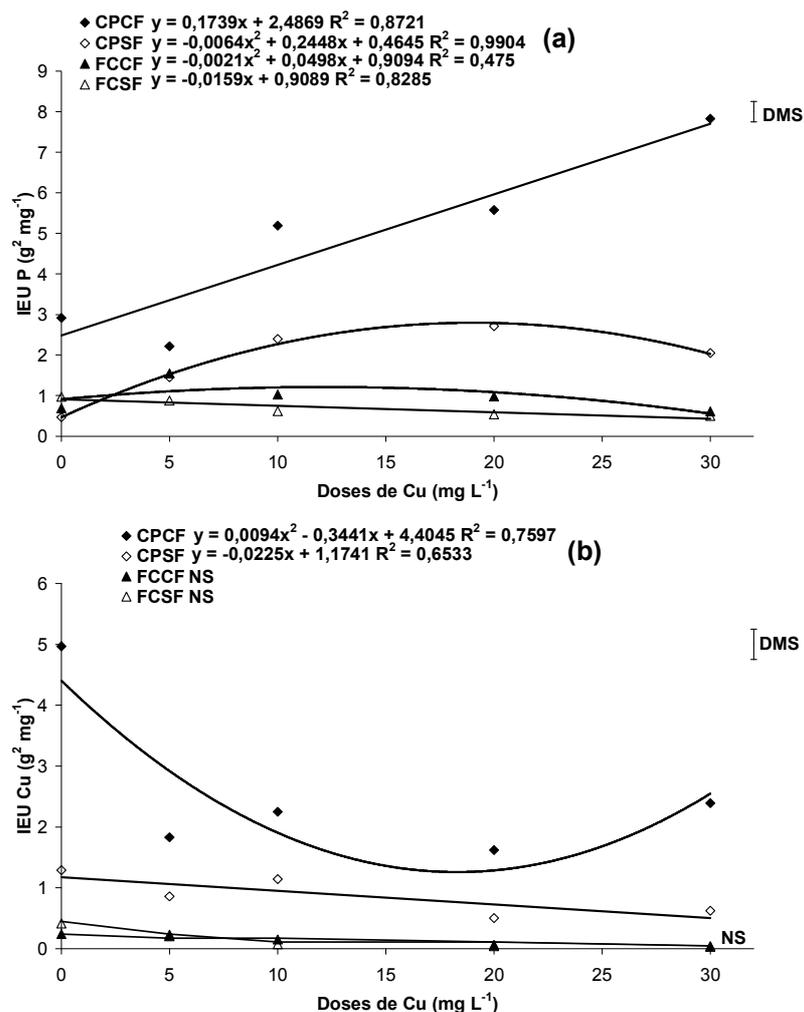


Figura 19. Índice de Eficiência de Uso (IEU) de Fósforo (P) (a) e Cobre (Cu) (b) das plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, com a utilização da casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

Tabela 11. Comprimento do micélio externo total (MET) de *Glomus intraradices* inoculado em plantas de limoeiro ‘Cravo’, com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP) e fibra de coco (FC) como substratos de cultivo.

Doses de Cu (mg L ⁻¹)	CP	FC
	m g ⁻¹ solo	m g ⁻¹ solo
0	3,15 b*	6,41 a
5	2,75 a	2,64 a
10	2,81 b	6,31 a
20	1,91 b	7,87 a
30	2,48 b	9,18 a

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

4.2 Experimento 2

4.2.1 Curvas de Crescimento

A altura das plantas não micorrizadas (Figura 20a) de limão ‘Cravo’ que tiveram a fibra de coco como substrato de cultivo mostrou que a aplicação de 20 mg L⁻¹ de Cu durante todo o período após o transplante resultou na menor altura de planta. A partir de 60 dias, a aplicação de 5 mg L⁻¹ reverteu em mudas com os maiores valores de altura, em torno de 63 cm. Na Figura 20b, as plantas micorrizadas, com a aplicação de 10 mg L⁻¹ de Cu apresentaram os maiores valores de altura (65 cm). A aplicação de 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu ao substrato resultou nos menores valores dessa variável.

A dose 5 mg L⁻¹ resultou nos maiores valores de altura das plantas não micorrizadas que tiveram a casca de pinus como substrato (Figura 21a) 150 dias após o transplante. Nas plantas micorrizadas (Figura 21b), a dose 10 mg L⁻¹ resultou, ao final das avaliações, nos maiores valores de altura das mesmas. Os menores valores foram obtidos na dose 30 mg L⁻¹ de Cu. A micorrização não foi responsável por variações na altura das mudas, já que os valores dessa variável permaneceram próximos quando se comparou, durante as avaliações, plantas não micorrizadas e micorrizadas.

A altura das plantas não micorrizadas e micorrizadas (Figura 22a, b) que tiveram a turfa como substrato de cultivo, praticamente não variou com a dose de Cu aplicada nem com a inoculação do FMA *Glomus intraradices*, ao longo do período experimental. Para as mudas não micorrizadas (Figura 22a) a dose responsável pelo maior desenvolvimento em altura foi 30 mg L⁻¹ a partir de 75 dias após o transplante, enquanto que a dose 10 mg L⁻¹ para as micorrizadas (Figura 22b).

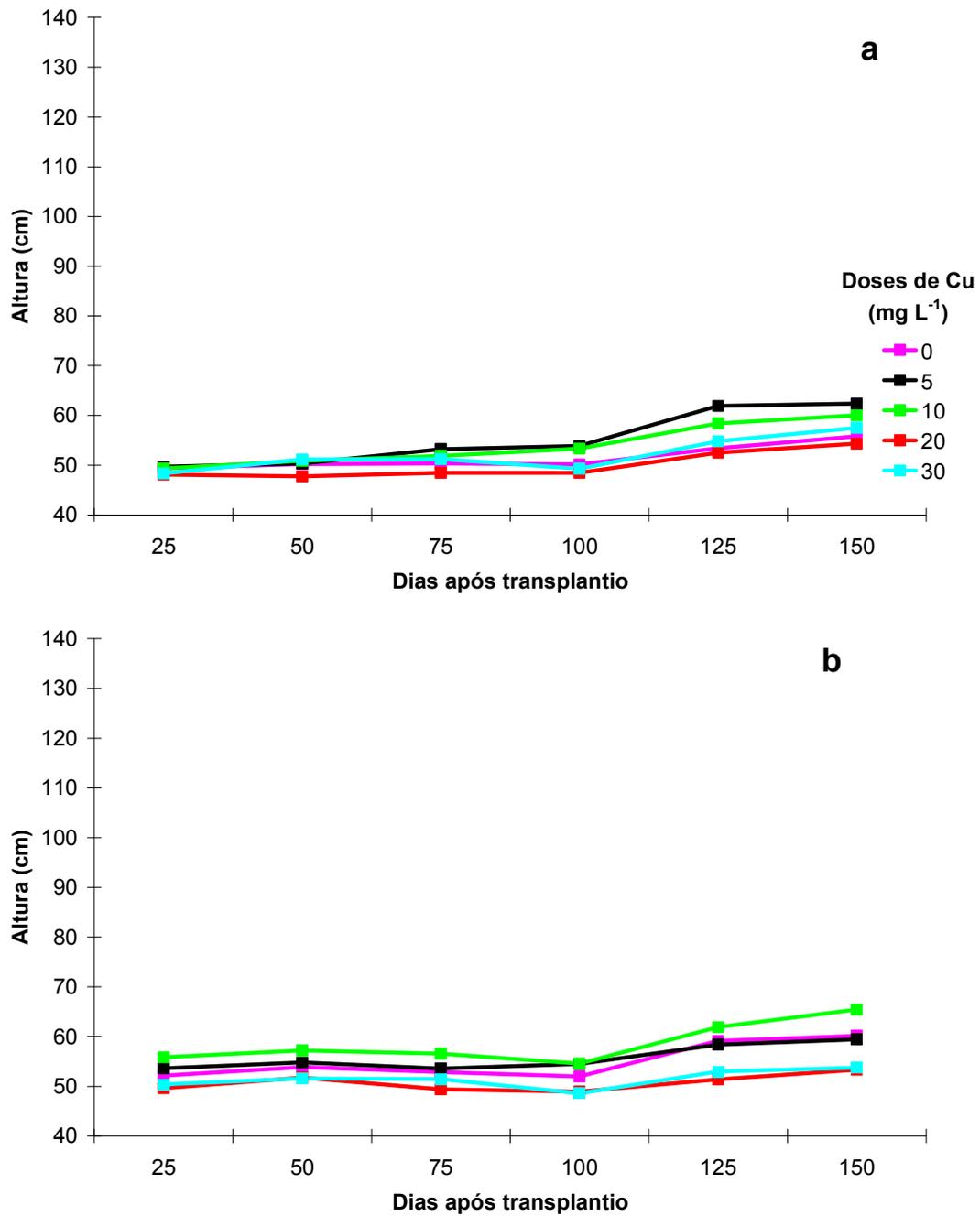


Figura 20. Altura das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro 'Cravo', utilizando fibra de coco como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

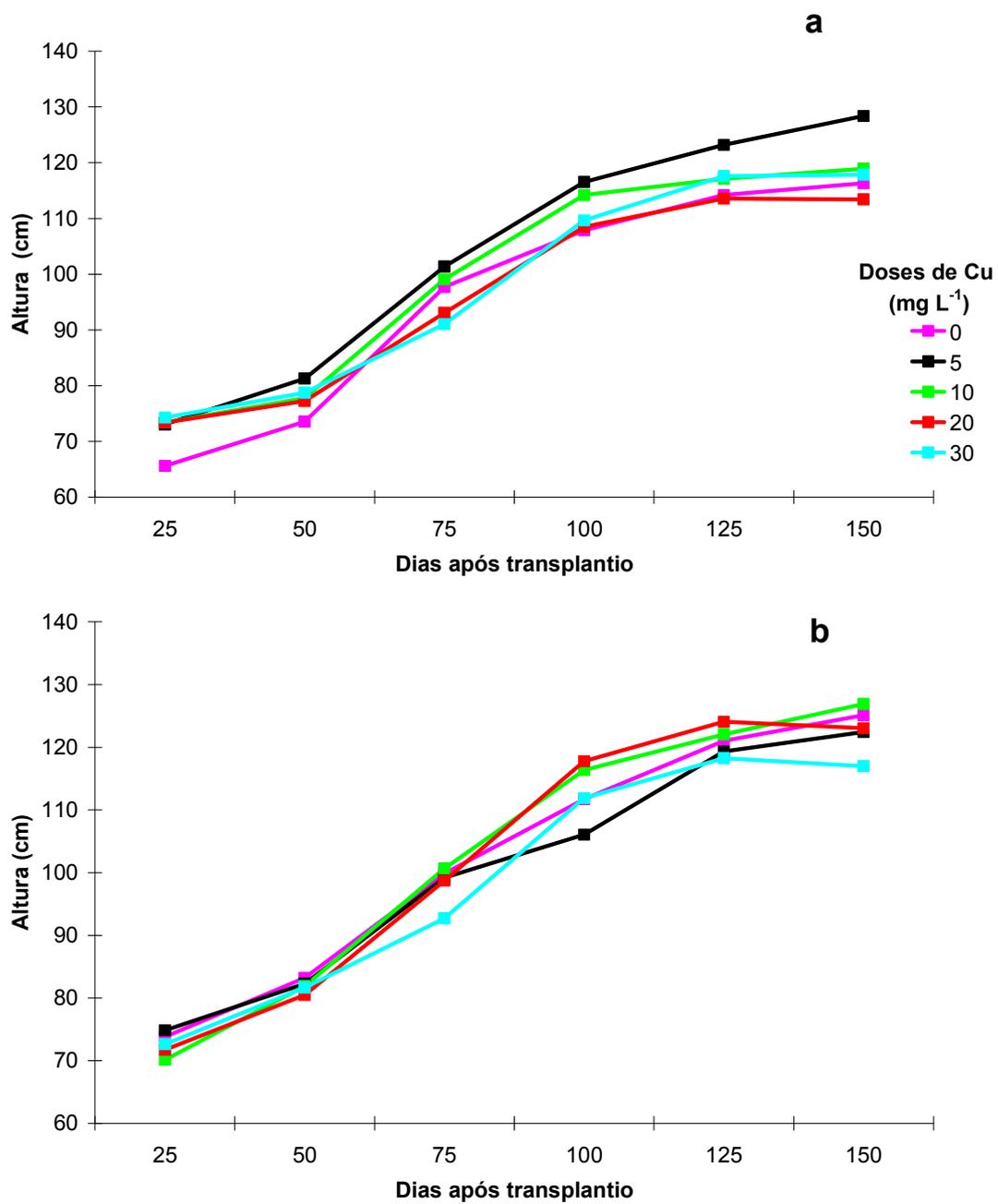


Figura 21. Altura das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando casca de pinus como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

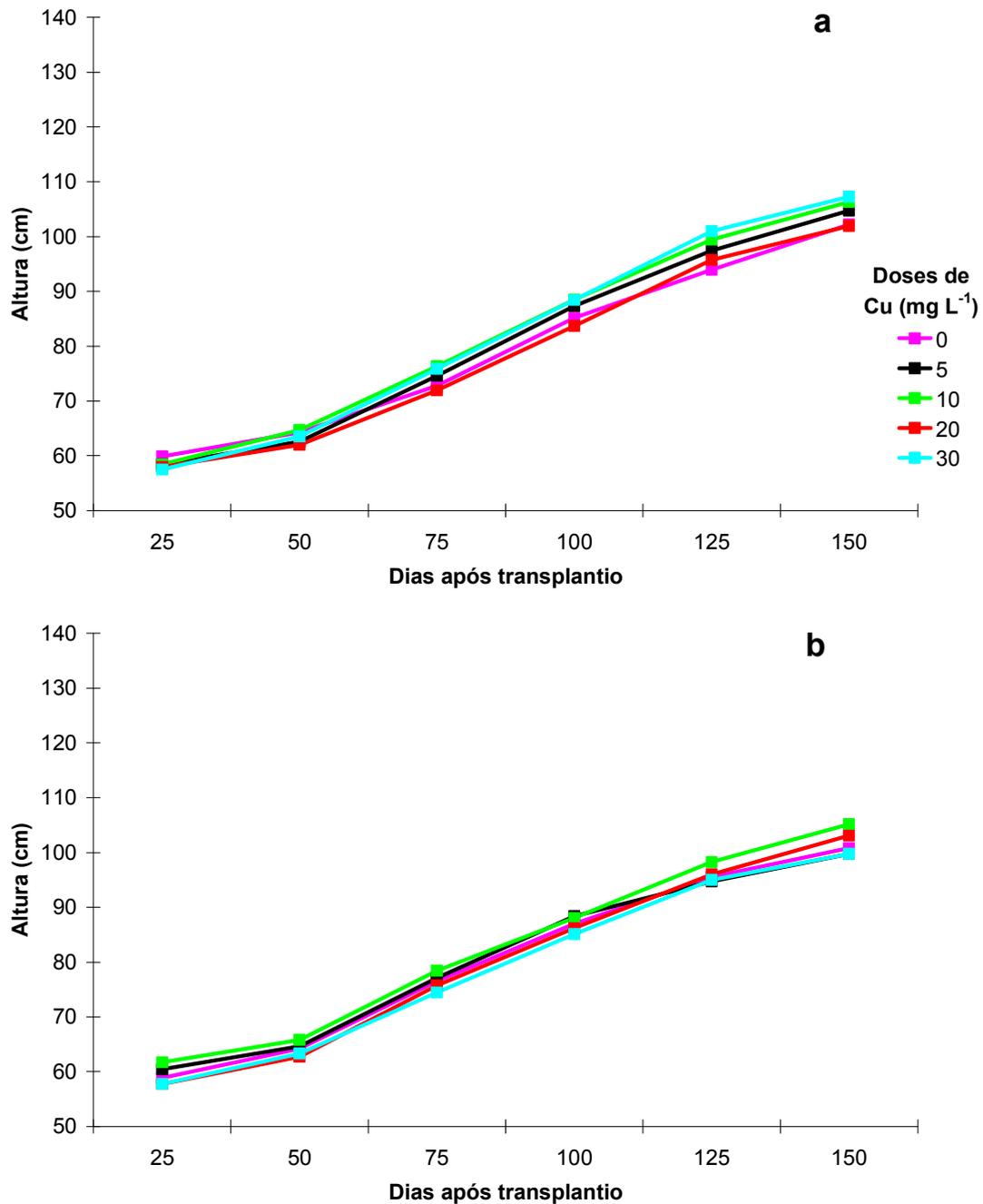


Figura 22. Altura das plantas não micorrizadas (SF) (a) e micorrizadas (CF) (b) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando turfa (T) como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

O diâmetro de caule das plantas não micorrizadas, que tiveram a fibra de coco como substrato, praticamente não variou com a dose de Cu aplicada (Figura 23a) ao longo do período experimental, alcançando 6,0-6,5 mm ao redor de 100 dias após o transplante. Já o diâmetro das plantas micorrizadas atingiu o ponto de enxertia (7 mm)

aos 100 dias após o transplante, com a dose 10 mg L⁻¹. A adição de 30 mg L⁻¹ de Cu resultou nos menores valores de diâmetro (Figura 23b).

Tanto para as plantas não micorrizadas quanto para as micorrizadas (Figura 24a, b), a aplicação de 30 mg L⁻¹ de Cu resultou em menores valores de diâmetro do caule das plantas cultivadas no substrato à base de casca de pinus, durante o período experimental. O ponto de enxertia tanto nas mudas não micorrizadas como nas micorrizadas foi obtido aos 75 dias após o transplante, nos tratamentos 0 e 5 mg L⁻¹ de Cu aplicado.

Durante o período experimental, as menores doses de Cu aplicadas à turfa promoveram maior diâmetro do caule da planta tanto não micorrizada quanto micorrizada (Figura 25a, b). O ponto de enxertia não foi alcançado durante o período de experimento, todavia, as mudas micorrizadas se aproximaram mais do mesmo atingindo, aos 150 dias após o transplante, na dose 5 mg L⁻¹ de Cu, 6,8 mm de diâmetro de caule.

De forma geral, a dose 30 mg L⁻¹ de Cu aplicado aos substratos, resultou em plantas com menor desenvolvimento de altura e diâmetro do caule. Esse fato pode ser decorrente do efeito negativo da aplicação de altas doses desse micronutriente.

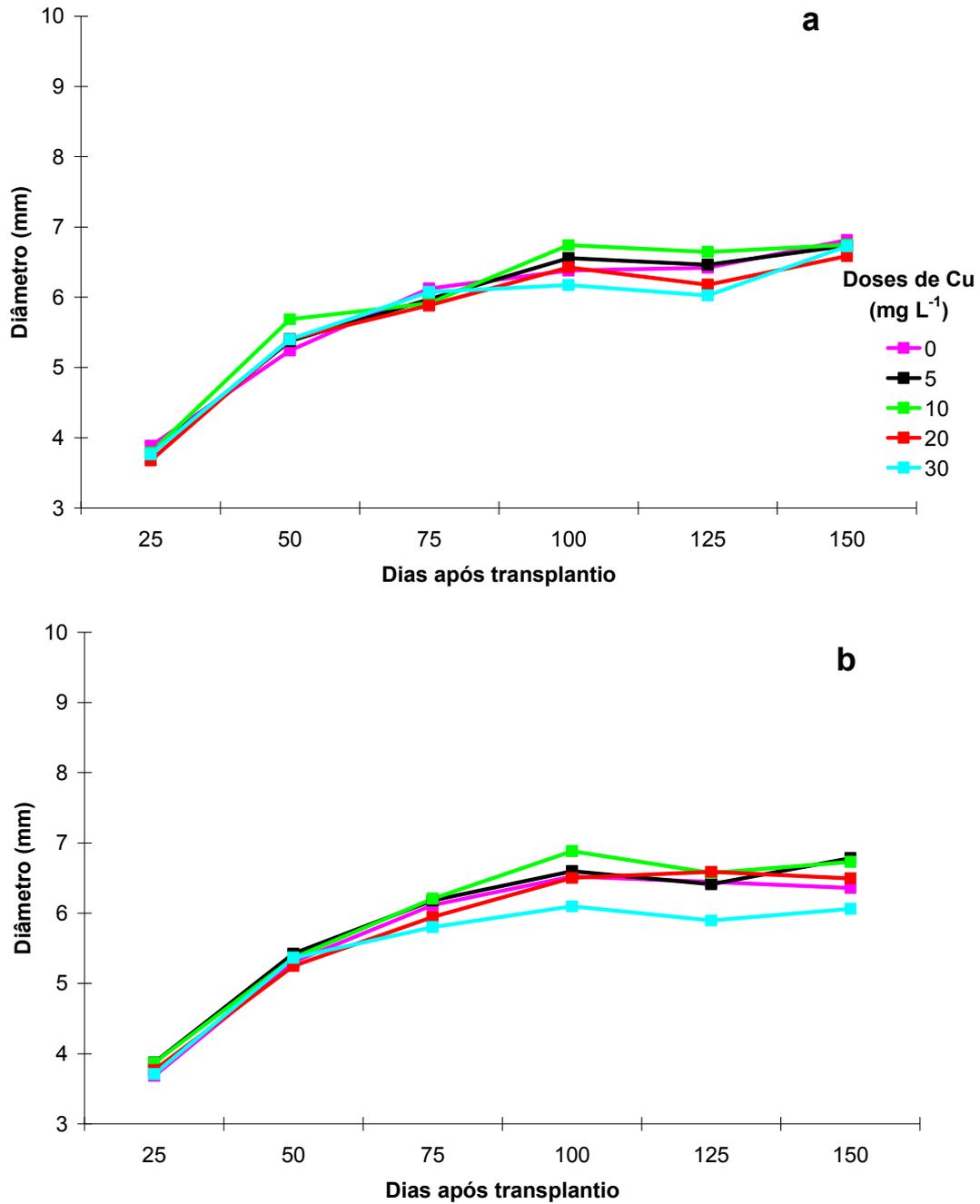


Figura 23. Diâmetro do caule das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro 'Cravo', utilizando fibra de coco como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

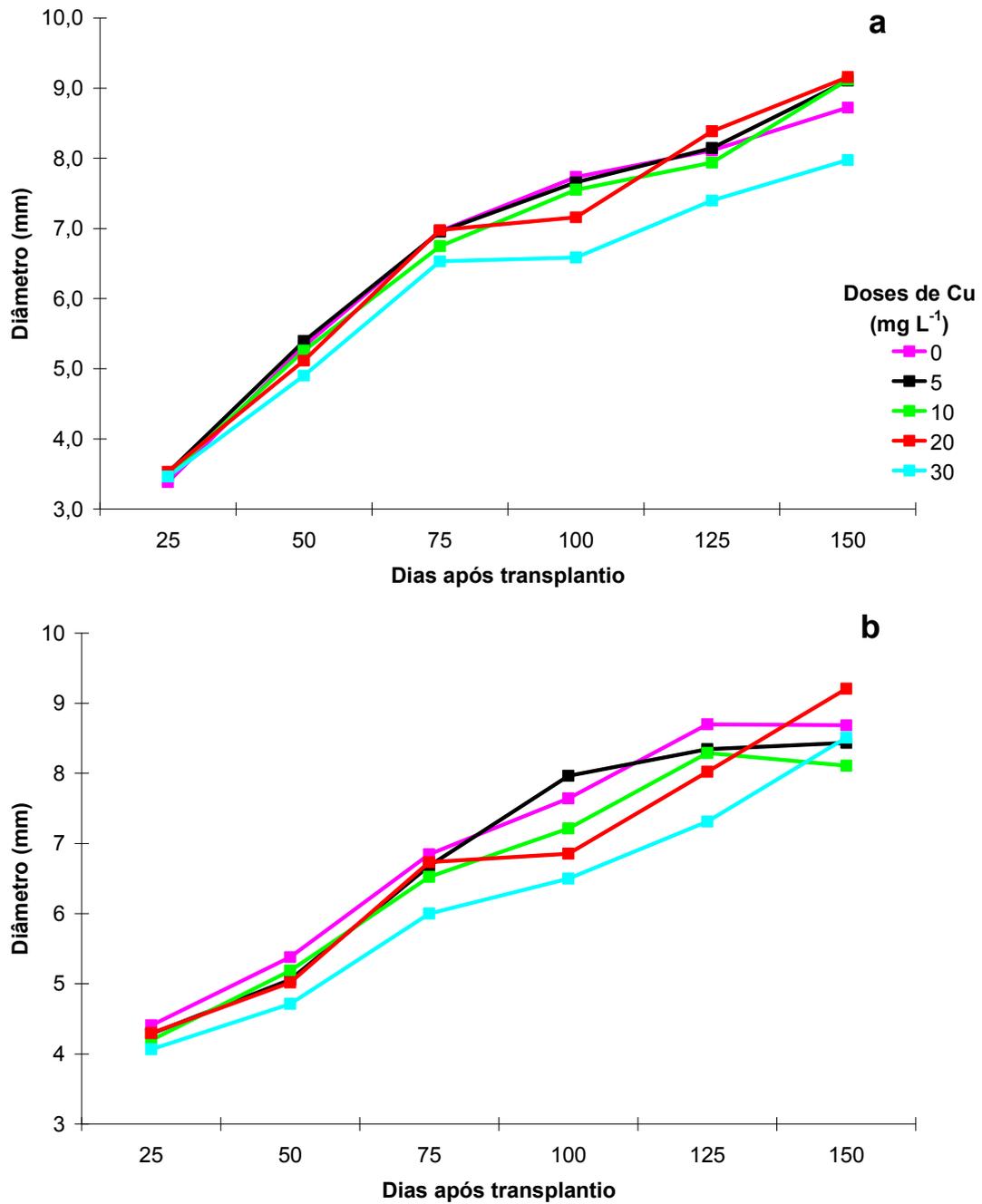


Figura 24. Diâmetro do caule das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro 'Cravo', utilizando casca de pinus como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

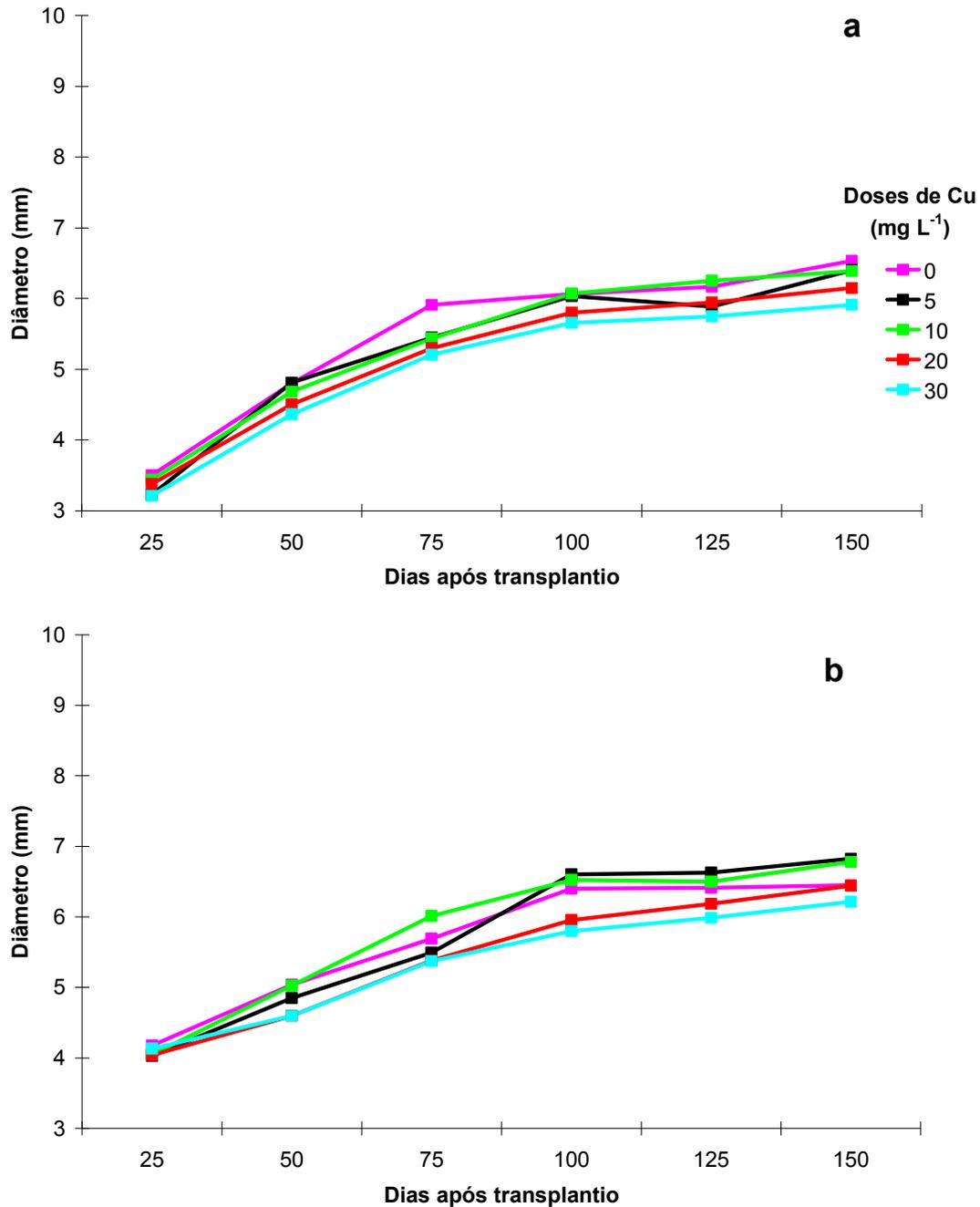


Figura 25. Diâmetro do caule das plantas não micorrizadas (a) e micorrizadas (b) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando turfa como substrato de cultivo e diferentes doses de Cu.

4.2.2 Variáveis de Crescimento

De forma geral, sem levar em consideração os substratos, a altura das plantas mostrou nas micorrizadas uma resposta linear descendente com as doses crescentes de Cu adicionadas ao substrato enquanto que nas não micorrizadas não houve ajuste significativo (Figura 26).

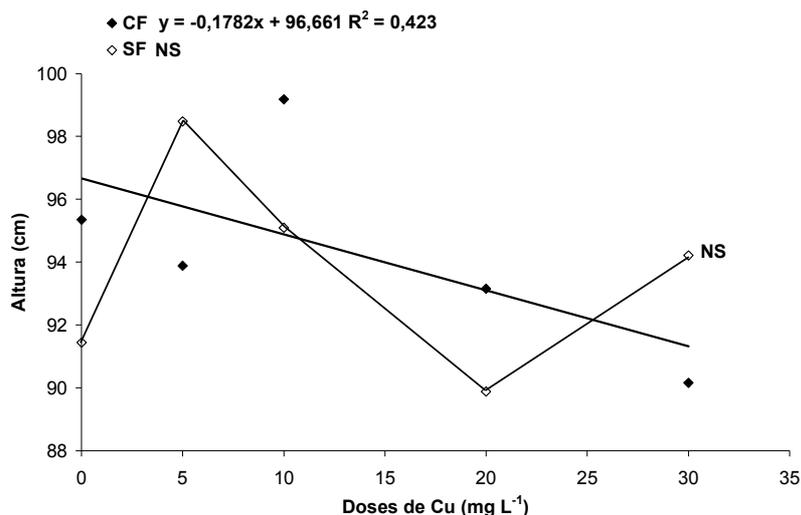


Figura 26. Altura de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu. NS – Não significativo.

O diâmetro do caule (Figura 27a) mostrou resposta quadrática com pico na dose 12,88 mg L⁻¹ de Cu nas plantas não micorrizadas desenvolvidas na casca de pinus e na dose 3,1 mg L⁻¹ de Cu nas plantas micorrizadas crescidas na fibra de coco. Nas plantas crescidas em turfa, a resposta foi linear descendente com o aumento das doses de Cu adicionadas. Para todos os demais tratamentos não houve ajuste significativo. Mudanças cultivadas em casca de pinus foram significativamente superiores aos demais tratamentos, em todas as doses de Cu aplicadas e independentemente da micorrização.

A massa da matéria fresca da raiz (MFR) mostrou que, com exceção das plantas não micorrizadas cultivadas na fibra de coco que apresentou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 22,92 mg L⁻¹ de Cu, para todos os outros tratamentos apresentou resposta linear descendente em função das doses crescentes de Cu. Plantas micorrizadas e não micorrizadas cultivadas em casca de pinus não diferiram entre si, com exceção da dose 30 mg L⁻¹ de Cu aplicado. Quando tais plantas foram comparadas aos demais tratamentos obteve-se que as mesmas foram estatisticamente superiores, até a dose 20 mg L⁻¹. As plantas desenvolvidas em turfa (micorrizadas e não micorrizadas) foram superiores às desenvolvidas em fibra de coco nas doses 10, 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu (Figura 27b).

A massa da matéria seca da parte aérea (MSPA) das plantas micorrizadas que se desenvolveram em casca de pinus apresentou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 24,98 mg L⁻¹ de Cu, enquanto que nas não micorrizadas a resposta foi linear descendente com a aplicação de doses crescentes de Cu. Nas mudas cultivadas em fibra

de coco, a MSPA apresentou resposta linear descendente com o aumento das doses de Cu aplicadas, independentemente da micorrização. Nas plantas micorrizadas e não micorrizadas crescidas em turfa não houve ajuste significativo. A produção de matéria seca da parte aérea das plantas crescidas na casca de pinus superou significativamente a dos demais tratamentos analisados (Figura 27c). Neste substrato, as plantas micorrizadas produziram maior biomassa que as não micorrizadas em todas as doses de Cu aplicadas, exceto na 20 mg L⁻¹ de Cu.

4.2.3 Variáveis Fisiológicas

Os teores de clorofila *a* (Figura 28a), *b* (Figura 28b) e *a+b* (Figura 28c) nas folhas das plantas não diferiram significativamente nas plantas cultivadas em casca de pinus e turfa e foram maiores que nas plantas cultivadas na fibra de coco.

O teor de carotenóides (Tabela 12) nas plantas micorrizadas crescidas na casca de pinus foi estatisticamente superior quando comparado ao das plantas desenvolvidas na fibra de coco. O teor nas plantas não micorrizadas não diferiu entre os substratos de cultivo.

Quanto à enzima fosfatase ácida (FA), plantas desenvolvidas em casca de pinus (Tabela 13) apresentaram maior atividade da enzima, estatisticamente superior aos demais tratamentos dentro de cada dose de Cu aplicada, exceto na maior (30 mg L⁻¹), não diferindo da atividade nas plantas crescidas em turfa.

A atividade da enzima redutase do nitrato (RN) mostrou resposta quadrática nas plantas micorrizadas desenvolvidas na fibra de coco, enquanto que nas plantas não micorrizadas, bem como nas micorrizadas crescidas na turfa, a resposta foi linear ascendente com o aumento das doses de Cu adicionadas ao substrato. Para todos os demais tratamentos, a atividade da enzima não apresentou ajuste significativo. Nas doses 20 e 30 mg L⁻¹ de Cu, os maiores valores da RN foram observados nas plantas micorrizadas crescidas na fibra de coco, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Figura 29).

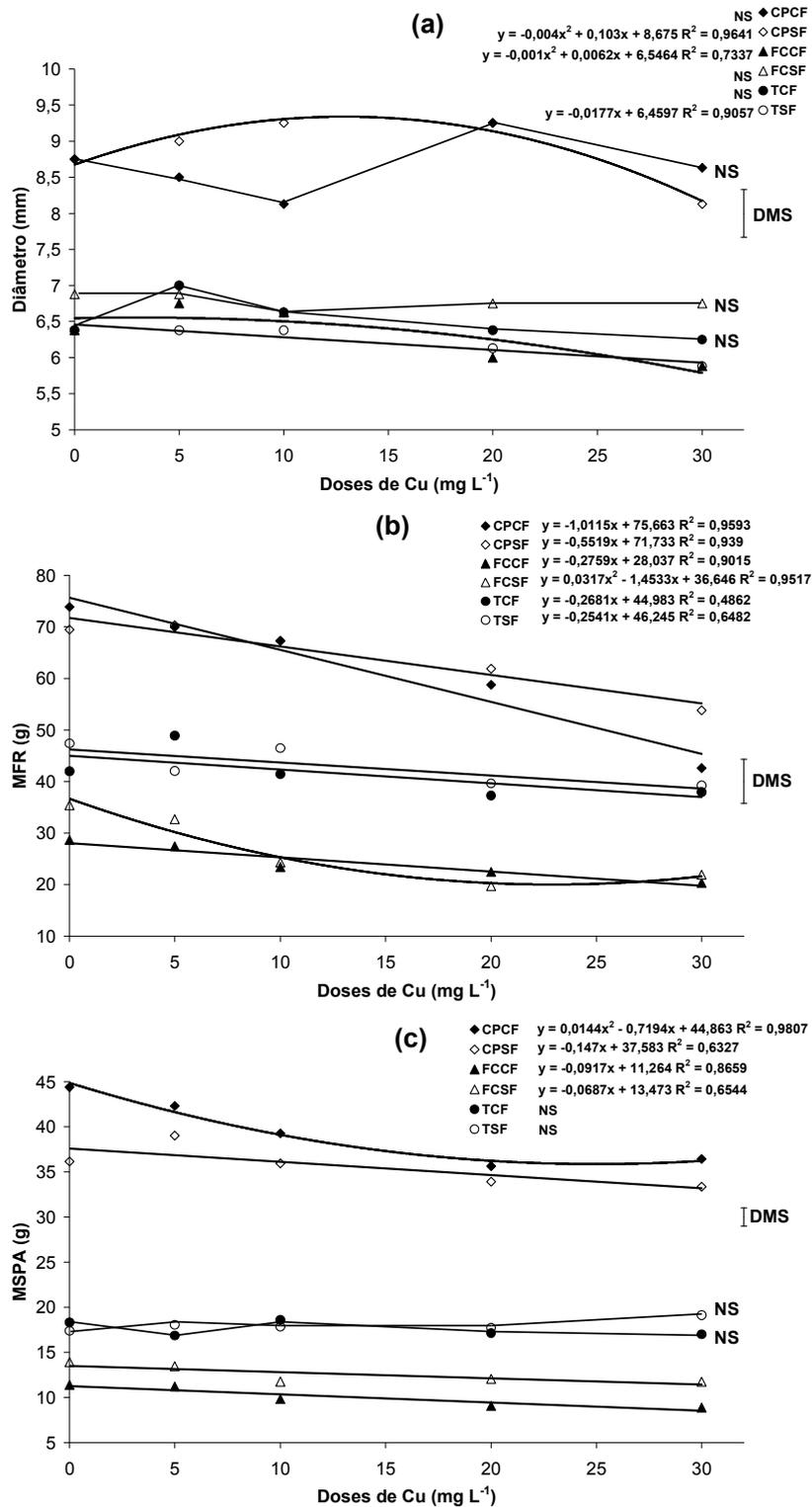


Figura 27. Diâmetro do Caule (a), Massa da Matéria Fresca da Raiz (MFR) (b) e Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (MSPA) (c) de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’, com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

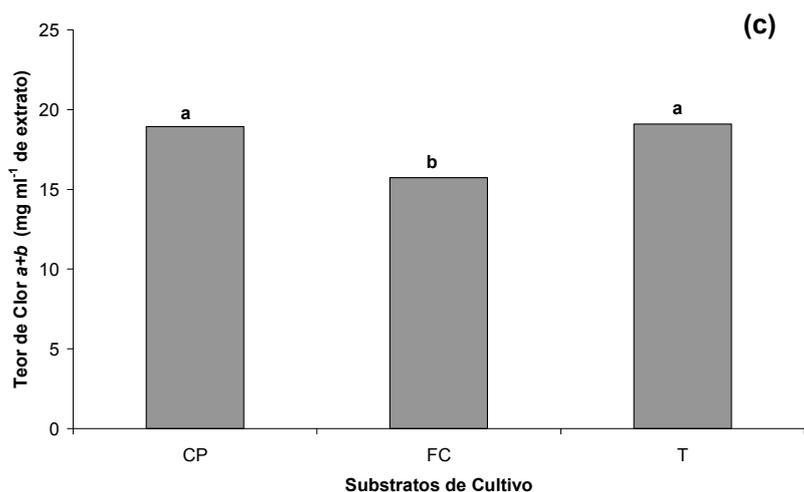
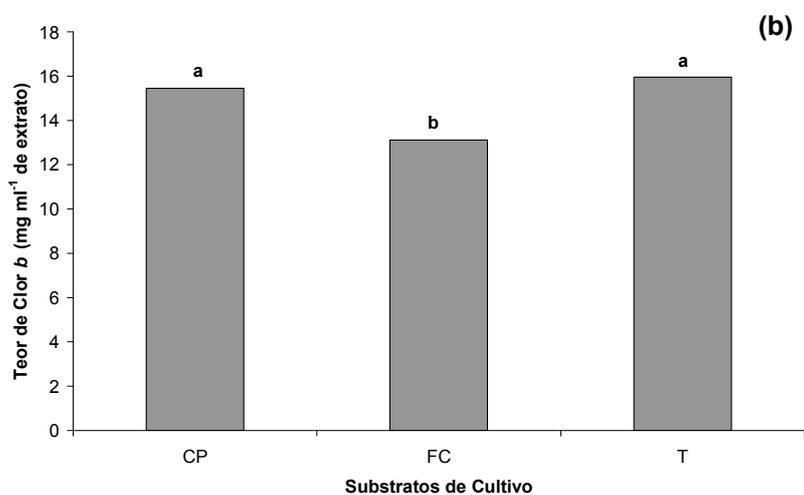
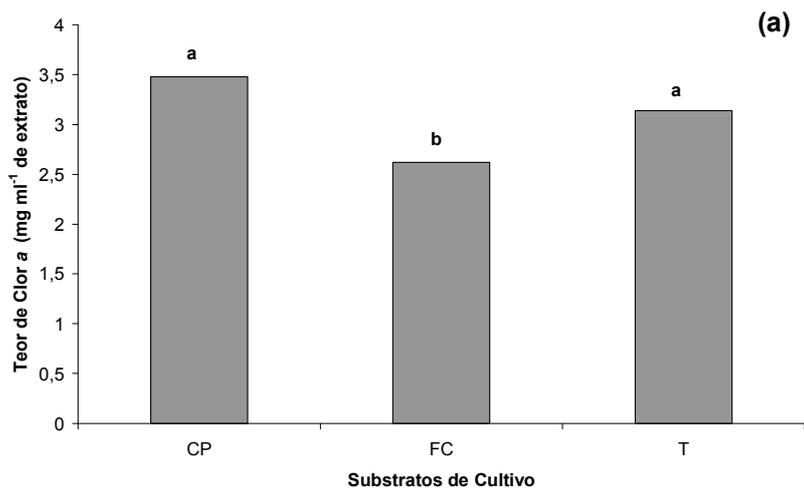


Figura 28. Teor de Clorofila *a* (Clor *a*) (a), Clorofila *b* (Clor *b*) (b) e Clorofila *a+b* (Clor *a+b*) (c) em folhas de plantas de limoeiro ‘Cravo’ utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 12. Teor de Carotenóides em folhas de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo.

Fungo	CP	FC	T
	$\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato	$\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato	$\mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato
CF	728,96 a*	578,95 b	664,13 ab
SF	700,66 a	699,64 a	745,65 a

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 13. Atividade da enzima Fosfatase Ácida (FA) em folhas de plantas de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo.

Doses de Cu	CP	FC	T
mg L^{-1}	$\mu\text{g p-nitrofenolfosfato g}^{-1} \text{h}^{-1}$		
0	12,10 a*	6,67 b	7,00 b
5	11,57 a	6,16 c	8,52 b
10	9,98 a	6,52 b	7,27 b
20	10,11 a	5,04 b	5,95 b
30	9,13 a	6,84 b	9,51 a

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

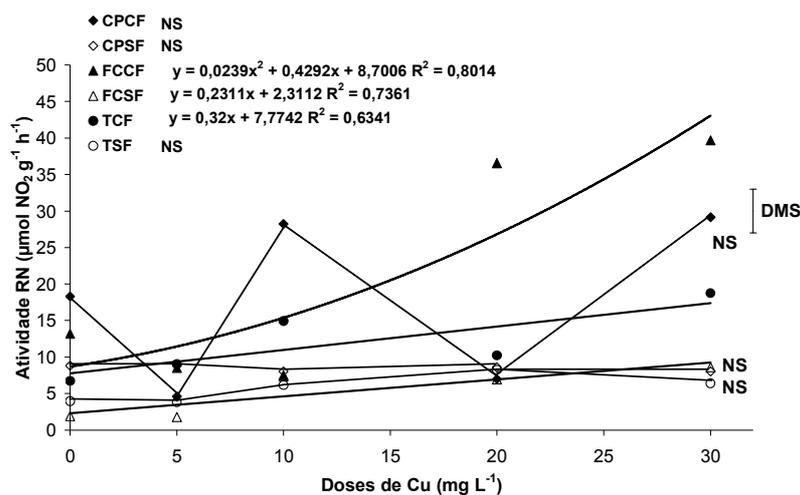


Figura 29. Atividade da enzima Redutase do Nitrato (RN) em folhas de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

4.2.4 Teor de Nutrientes da Parte Aérea

O teor de N da parte aérea (Figura 30a) nas plantas crescidas em casca de pinus e turfa não diferiu estatisticamente entre si e foi superior ao das plantas desenvolvidas na fibra de coco.

As plantas cultivadas na fibra de coco apresentaram teores de K na parte aérea significativamente superiores ao das crescidas em casca de pinus e turfa, que não diferiram entre si (Figura 30b). Ao se considerar o teor de K em função das doses crescentes de Cu aplicadas, obteve-se uma resposta linear ascendente (Figura 31).

O teor de Ca nas plantas cultivadas na casca de pinus mostrou uma resposta quadrática com ponto de mínima na dose 14,21 mg L⁻¹ de Cu nas micorrizadas, enquanto que nas não micorrizadas ocorreu ponto de máxima na dose 15,70 mg L⁻¹. Para todos os demais tratamentos não apresentou ajuste significativo (Figura 32).

O teor Mg não variou com as doses de Cu aplicadas e, em todas elas, o maior valor foi apresentado nas plantas cultivadas, respectivamente, nos substratos casca de pinus, turfa e fibra de coco (Tabela 14), que diferiram estatisticamente entre si, independentemente da micorrização (Tabela 15).

A micorrização não influenciou o teor de P na parte aérea das plantas (Tabela 15). O maior teor dessa variável foi apresentado pelas plantas cultivadas na casca de pinus, seguido pelos obtidos nas plantas crescidas em fibra de coco e turfa, que diferiram significamente entre si.

O maior teor de S da parte aérea (Tabela 15) nas plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus superou estatisticamente o das plantas crescidas em fibra de coco e turfa, sendo que estas últimas não diferiram entre si. Já nas plantas não micorrizadas o maior teor de S foi apresentado pelas plantas cultivadas, respectivamente, em casca de pinus, fibra de coco e turfa, que diferiram estatisticamente entre si.

O teor de B nas plantas micorrizadas cultivadas em fibra de coco foi significativamente maior que o das plantas crescidas em casca de pinus e turfa. Os teores de B nas plantas não micorrizadas desenvolvidas em casca de pinus e fibra de coco não diferiram entre si e superaram o teor das plantas crescidas em turfa (Tabela 15).

Os maiores teores de Cu na parte aérea foram observados nas plantas cultivadas na fibra de coco e os menores, nas plantas crescidas na casca de pinus (Tabela 14).

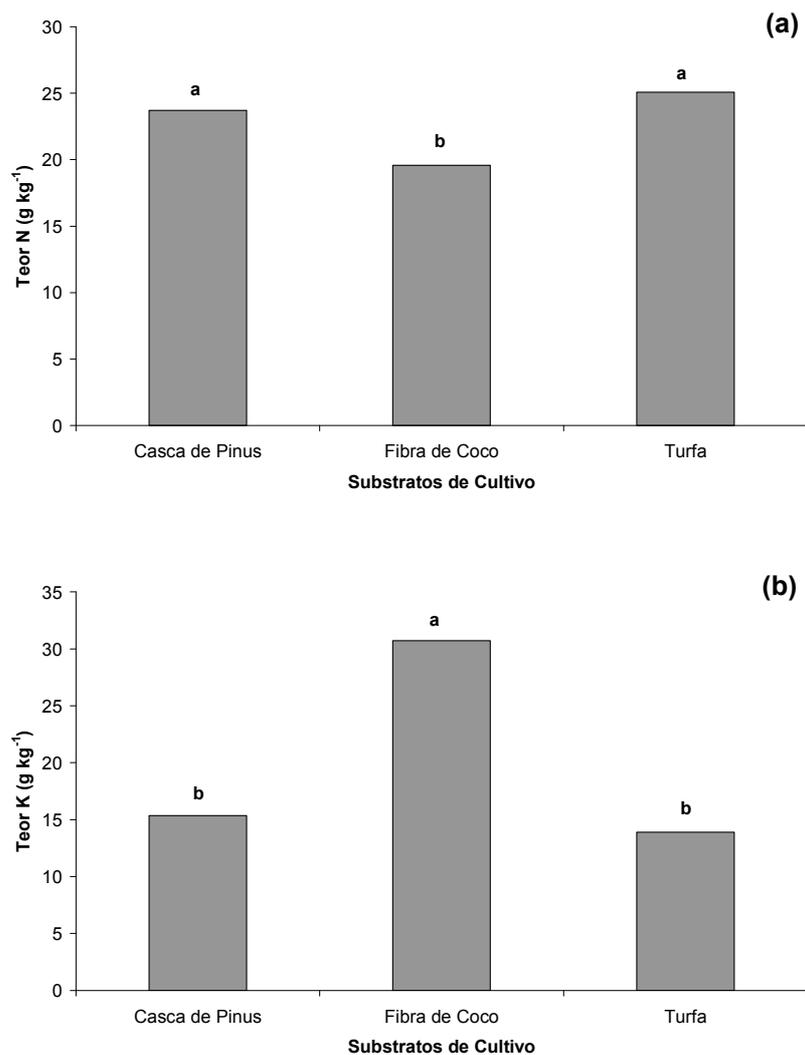


Figura 30. Teor de Nitrogênio (N) (a) e Potássio (K) (b) da parte aérea de plantas de limoeiro ‘Cravo’ utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Na doses mais altas de Cu aplicadas, o teor de Fe da parte aérea das plantas de limoeiro ‘Cravo’ cultivado na casca de pinus foi significativamente maior que nas cultivadas na fibra de coco e na turfa (Tabela 14). Quanto ao efeito da micorrização, a inoculação do *Glomus intraradices* resultou no maior teor de Fe na parte aérea das plantas crescidas em casca de pinus e fibra de coco, estatisticamente superior ao encontrado nas plantas cultivadas na turfa. Nas plantas não micorrizadas, os tratamentos diferiram entre si, sendo que as plantas cultivadas na casca de pinus tiveram maiores teores desse nutriente, seguida da fibra de coco e turfa (Tabela 15).

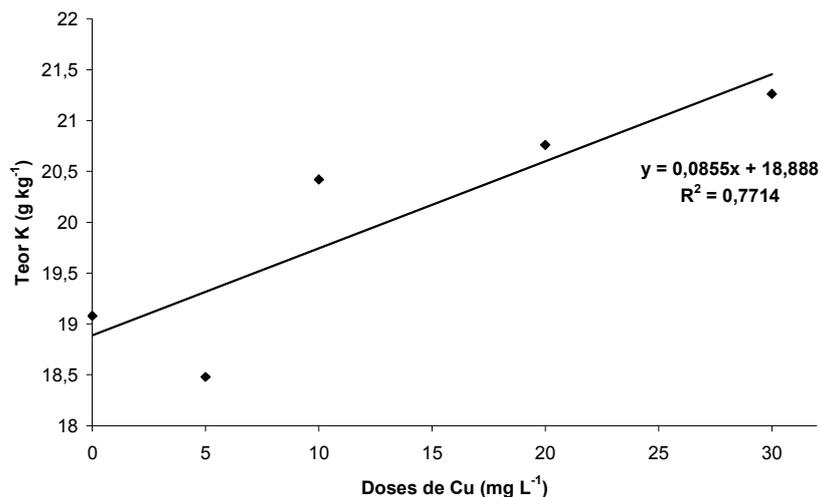


Figura 31. Teor de Potássio (K) da parte aérea de plantas de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu.

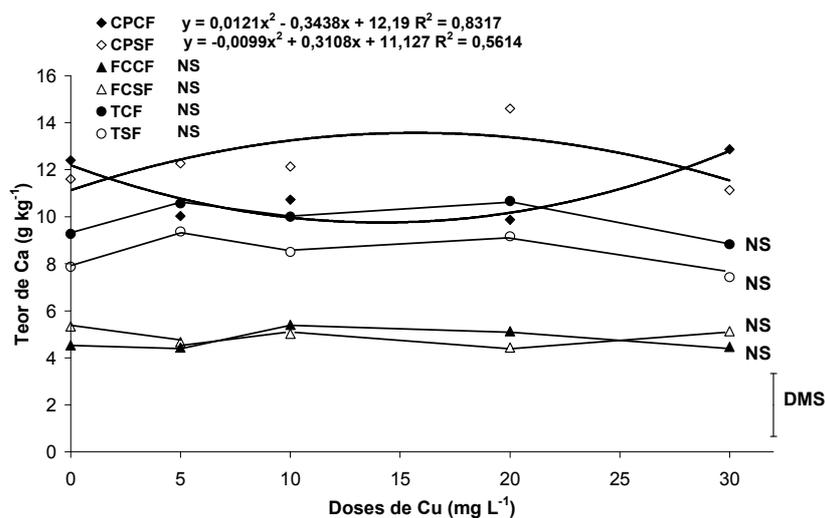


Figura 32. Teor de Cálcio (Ca) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%. NS – Não significativo.

O teor de Zn na parte aérea foi significativamente maior nas plantas cultivadas na casca de pinus e na fibra de coco que na turfa (Tabela 14).

O teor de Mn na parte aérea das plantas cultivadas em casca de pinus mostrou, nas micorrizadas, resposta linear ascendente com o aumento das doses de Cu aplicadas e, nas não micorrizadas, resposta quadrática com pico na dose 19,67 mg L⁻¹ de Cu. Tais plantas diferiram entre si apenas na dose 20 mg L⁻¹ de Cu. Para todos os demais

tratamentos, não houve ajuste significativo (Figura 33). O teor de Mn nas plantas cultivadas na casca de pinus superou significativamente o teor nas plantas cultivadas nos demais substratos.

Tabela 14. Teor de Magnésio (Mg), Cobre (Cu), Ferro (Fe) e Zinco (Zn) da Parte Aérea de plantas de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo.

Doses de Cu	CP	FC	T
Mg			
mg L⁻¹	g kg⁻¹	g kg⁻¹	g kg⁻¹
0	1,57 a*	0,82 c	1,25 b
5	2,02 a	0,93 c	1,57 b
10	2,40 a	1,02 c	1,52 b
20	2,55 a	1,10 c	1,82 b
30	2,53 a	1,15 c	1,73 b
Cu			
mg L⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹
0	2,58 b	7,53 a	11,85 a
5	2,96 b	14,72 a	14,13 a
10	4,40 c	22,18 a	12,40 b
20	4,88 c	35,05 a	14,95 b
30	6,82 c	43,03 a	13,05 b
Fe			
mg L⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹
0	55,00 a	88,16 a	57,17 a
5	109,00 ab	116,33 a	76,67 b
10	140,33 a	143,67 a	102,17 a
20	191,17 a	122,83 b	112,33 b
30	227,67 a	139,33 b	104,50 c
Zn			
mg L⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹
0	21,03 a	23,53 a	19,52 a
5	20,78 ab	23,65 a	17,35 b
10	23,32 b	28,83 a	17,40 c
20	28,08 a	24,57 ab	20,08 b
30	25,98 a	24,33 a	15,53 b

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 15. Teor de Fósforo (P), Magnésio (Mg), Enxofre (S), Boro (B), Ferro (Fe) da Parte Aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo.

Inoculação	CP	FC	T
P			
	g kg⁻¹	g kg⁻¹	g kg⁻¹
CF	2,19 a*	1,58 b	0,74 c
SF	2,38 a	1,30 b	0,64 c
Mg			
	g kg⁻¹	g kg⁻¹	g kg⁻¹
CF	2,15 a	1,03 c	1,61 b
SF	2,27 a	0,98 c	1,54 b
S			
	g kg⁻¹	g kg⁻¹	g kg⁻¹
CF	2,09 a	1,57 b	1,61 b
SF	2,30 a	1,39 c	1,61 b
B			
	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹
CF	29,57 b	38,31 a	14,87 c
SF	35,49 a	38,81 a	13,28 b
Fe			
	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹	mg kg⁻¹
CF	133,80 a	127,13 a	95,67 b
SF	155,47 a	117,00 b	85,47 c

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

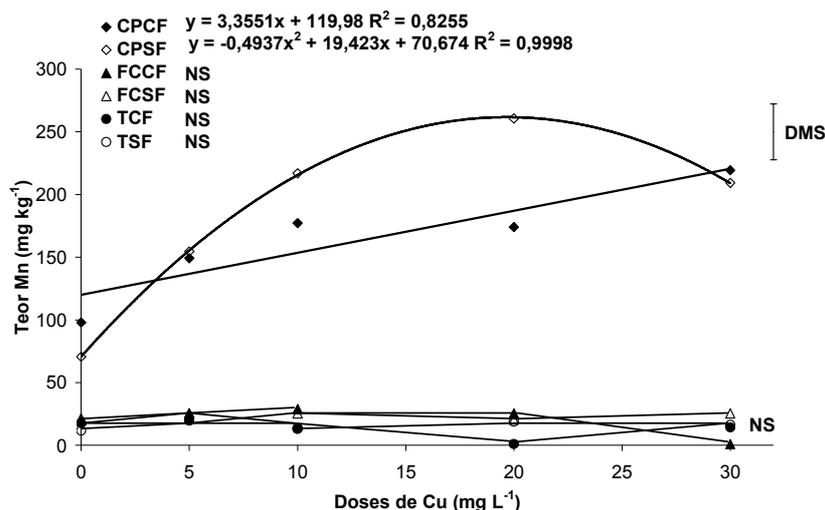


Figura 33. Teor de Manganês (Mn) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%.

4.2.5 Quantidade Acumulada de nutrientes na Parte Aérea

A quantidade acumulada de N na parte aérea mostrou uma resposta linear descendente em função às doses crescentes de Cu adicionadas nas plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus e uma resposta quadrática com pico na dose 13,53 mg L⁻¹ de Cu nas não micorrizadas (Figura 34a). Nas plantas cultivadas na turfa, o acúmulo de N mostrou resposta quadrática, com pico de mínima na dose 17,52 mg L⁻¹ nas micorrizadas e na dose 20,78 mg L⁻¹ de Cu para as não micorrizadas. Para as plantas micorrizadas desenvolvidas na fibra de coco não houve ajuste significativo, ou seja, não variou com as doses de Cu aplicadas, enquanto que nas não micorrizadas a resposta foi linear descendente com as doses crescentes de Cu adicionadas. Plantas micorrizadas apresentaram maior acúmulo de N na menor e na maior dose de Cu (0 e 30 mg L⁻¹), diferindo significativamente das não micorrizadas. As plantas crescidas em casca de pinus foram estatisticamente superiores a todos os demais tratamentos estudados. Não houve diferença estatística entre as plantas micorrizadas e não micorrizadas crescidas na turfa. Ainda, estes tratamentos foram superiores, em todas as doses de Cu aplicadas, àqueles que tiveram a fibra de coco como substrato de cultivo.

A quantidade acumulada de K nas plantas micorrizadas crescidas em casca de pinus apresentou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 13,42 mg L⁻¹ (Figura 34b). Nas plantas não micorrizadas não houve ajuste significativo. O acúmulo de K nas plantas micorrizadas e não micorrizadas desenvolvidas no substrato fibra de coco apresentou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 19,29 mg L⁻¹ de Cu para as primeiras e 22,03 mg L⁻¹ para as outras. Quanto às plantas crescidas em turfa, não houve ajuste significativo para o acúmulo de K na parte aérea. As plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus apresentaram significativamente maior acúmulo de K que as não micorrizadas nas doses 0 e 30 mg L⁻¹ de Cu. Nas plantas cultivadas na casca de pinus, independentemente da micorrização, houve maior acúmulo de K na parte aérea, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos estudados.

O acúmulo de P mostrou nas plantas micorrizadas desenvolvidas em casca de pinus resposta quadrática com ponto de mínima na dose 12 mg L⁻¹ de Cu enquanto que nas plantas não micorrizadas, a resposta foi quadrática com pico na dose 12,32 mg L⁻¹ (Figura 34c). Nas plantas micorrizadas desenvolvidas na fibra de coco o acúmulo de P apresentou resposta linear descendentes com as doses crescentes de Cu aplicadas. Para os demais tratamentos não houve ajuste significativo. Nas doses 0, 20 e 30 mg L⁻¹ de

Cu, as plantas desenvolvidas na casca de pinus apresentaram maior acúmulo de P que as não micorrizadas. Plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus atingiram na dose 30 mg L⁻¹ o maior acúmulo desse macronutriente.

A quantidade acumulada de Ca nas plantas crescidas na casca de pinus mostrou resposta quadrática, com ponto de mínima na dose 17,73 mg L⁻¹ nas micorrizadas e pico na dose 13,72 mg L⁻¹ de Cu nas não micorrizadas (Figura 35a). Para as plantas crescidas na fibra de coco e na turfa não houve ajuste significativo. O acúmulo de Ca nas plantas crescidas na casca de pinus, em todas as doses de Cu e independentemente da micorrização, foi estatisticamente superior que nos demais substratos. No substrato casca de pinus, plantas micorrizadas e não micorrizadas diferiram entre si nas doses 0 e 30 mg L⁻¹ de Cu, sendo que as plantas micorrizadas apresentaram maior acúmulo.

A quantidade acumulada de Mg nas plantas micorrizadas crescidas em casca de pinus apresentou resposta linear ascendente com as doses crescentes de Cu adicionadas e nas não micorrizadas a resposta foi quadrática com pico na dose 14,24 mg L⁻¹ de Cu (Figura 35b). Tanto nas plantas micorrizadas como nas não micorrizadas cultivadas em turfa o acúmulo de Mg apresentou resposta linear ascendente em função do aumento das doses de Cu aplicadas ao substrato. Nas plantas cultivadas na fibra de coco, não houve ajuste significativo. Plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus superaram as não micorrizadas quanto ao acúmulo desse macronutriente, nas dose 0, 5 e 10 mg L⁻¹ de Cu. Independentemente da micorrização e das doses de Cu, o acúmulo de Mg nas plantas crescidas na casca de pinus foi estatisticamente superior ao dos demais tratamentos. Plantas micorrizadas e não micorrizadas cultivadas na turfa não diferindo entre si em nenhuma das doses de Cu aplicadas e foram superiores às plantas crescidas em fibra de coco quanto ao acúmulo de Mg na parte aérea.

A quantidade acumulada de S na parte aérea das plantas desenvolvidas em casca de pinus mostrou resposta quadrática, com ponto de mínima na dose 14,24 mg L⁻¹ nas micorrizadas e pico na dose 47,59 mg L⁻¹ nas não micorrizadas (Figura 35c). Nos demais tratamentos, não houve ajuste significativo. Em todas as doses de Cu aplicadas o acúmulo de S nas plantas crescidas na casca de pinus foi significativamente superior ao das plantas dos demais substratos. Na casca de pinus, o acúmulo de S nas plantas micorrizadas foi significativamente maior que nas não micorrizadas somente quando o Cu não foi adicionado (dose 0).

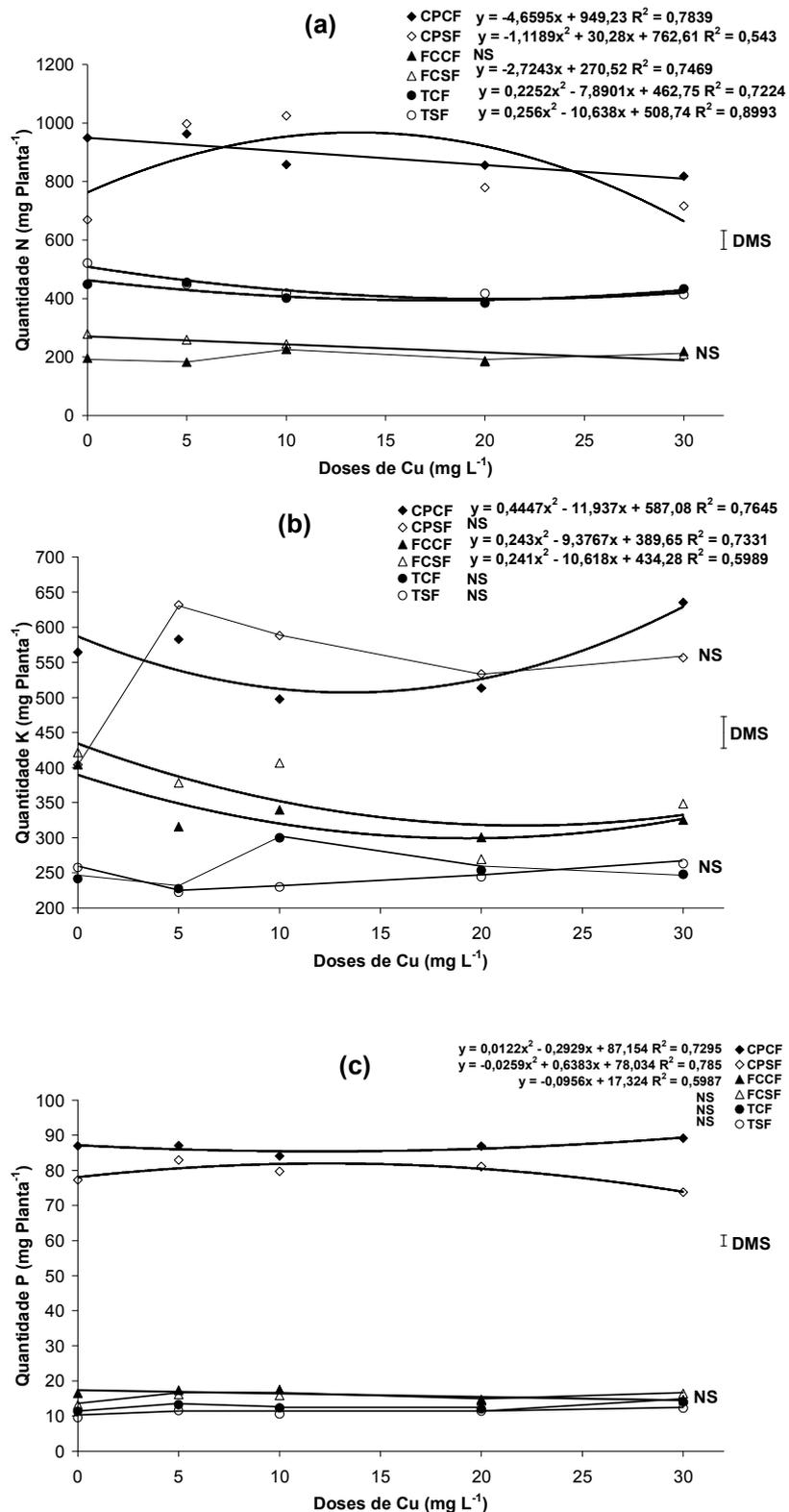


Figura 34. Quantidade Acumulada de Nitrogênio (N) (a), Potássio (K) (b) e Fósforo (P) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%.

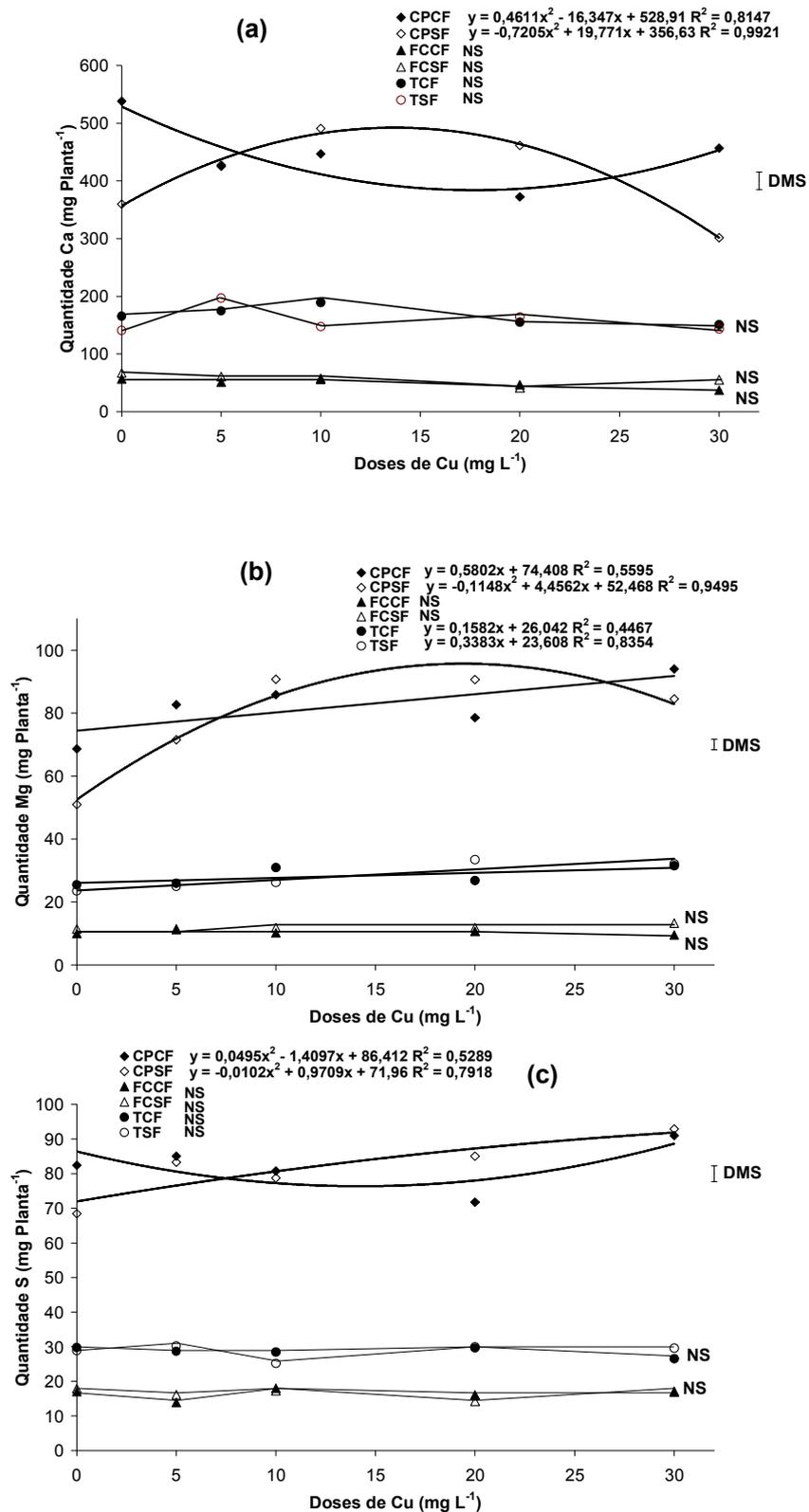


Figura 35. Quantidade Acumulada de Cálcio (Ca) (a), Magnésio (Mg) (b) e Enxofre (S) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%.

Quanto aos micronutrientes, a quantidade acumulada de B mostrou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 15,51 mg L⁻¹ para as plantas micorrizadas crescidas na casca de pinus e resposta quadrática com pico na dose 15,18 mg L⁻¹ para as não micorrizadas (Figura 36a). Nas plantas crescidas no substrato fibra de coco a resposta foi linear descendente com as doses crescentes de Cu adicionadas, nas micorrizadas, e resposta quadrática com pico na dose 18,93 mg L⁻¹ nas não micorrizadas. Quanto à turfa, o acúmulo de B não mostrou ajuste significativo. Apenas na dose 30 mg L⁻¹ não houve diferença estatística entre as plantas cultivadas na casca de pinus, sendo que o acúmulo nas plantas não micorrizadas superou o nas micorrizadas, exceto quando não se aplicou Cu (dose 0). Independentemente da micorrização e em todas as doses de Cu, o acúmulo de B nas plantas crescidas em casca de pinus foi estatisticamente superior ao dos demais tratamentos.

A quantidade acumulada de Cu na parte aérea das plantas crescidas na fibra de coco apresentou resposta quadrática com pico na dose 29,53 mg L⁻¹ nas micorrizadas e na dose 39,63 mg L⁻¹ de Cu nas não micorrizadas (Figura 36b). Nas plantas micorrizadas crescidas na casca de pinus, apresentou resposta quadrática com ponto de mínima na dose 5,44 mg L⁻¹ de Cu enquanto que nas não micorrizadas a resposta foi quadrática com pico na dose 18,26 mg L⁻¹. O acúmulo de Cu nas plantas cultivadas na turfa não mostrou ajuste significativo. A partir da dose 10 mg L⁻¹ de Cu, as plantas não micorrizadas cultivadas na fibra de coco passaram a acumular maior quantidade de Cu na parte aérea, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

O acúmulo de Fe na parte aérea nas plantas micorrizadas desenvolvidas em casca de pinus mostrou resposta linear ascendente com o aumento das doses de Cu aplicadas enquanto que nas não micorrizadas a resposta foi quadrática com pico na dose 20,33 mg L⁻¹ (Figura 36c). Nas plantas micorrizadas cultivadas na fibra de coco o Fe acumulado mostrou resposta quadrática com pico na dose 18,19 mg L⁻¹ de Cu, enquanto nas não micorrizadas não houve ajuste significativo. Nas plantas micorrizadas desenvolvidas em turfa não houve ajuste significativo e nas não micorrizadas, a resposta foi quadrática com pico na dose 26,22 mg L⁻¹ de Cu. Na dose 30 mg L⁻¹ de Cu, as plantas micorrizadas crescidas na casca de pinus apresentaram o maior acúmulo de Fe na parte aérea diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. O acúmulo de Fe nas plantas crescidas em casca de pinus foi estatisticamente superiores a todos os demais substratos. Plantas micorrizadas e não micorrizadas cultivadas na fibra de coco e na turfa não diferiram entre si.

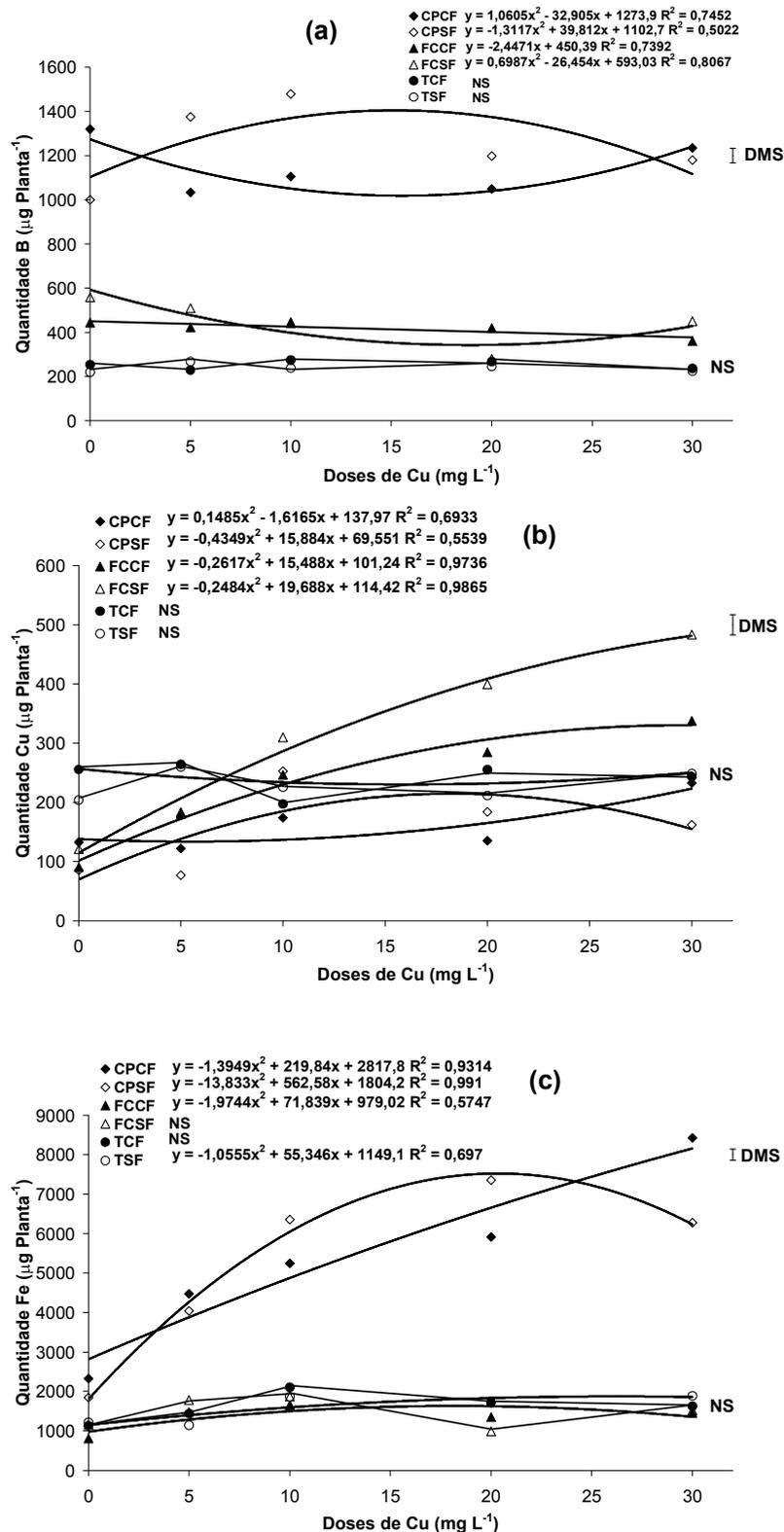


Figura 36. Quantidade Acumulada de Boro (B) (a), Cobre (Cu) (b) e Ferro (Fe) (c) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%.

A quantidade acumulada de Mn na parte aérea somente mostrou ajuste significativo nas plantas não micorrizadas crescidas na casca de pinus, com pico na dose 18,77 mg L⁻¹ de Cu (Figura 37a). Neste substrato, as plantas não micorrizadas diferiram das micorrizadas apenas na dose 20 mg L⁻¹ de Cu, sendo que as não micorrizadas superaram significativamente as micorrizadas. Maiores acúmulos de Mn foram observados na parte aérea das plantas cultivadas na casca de pinus.

A quantidade acumulada de Zn nas plantas desenvolvidas na casca de pinus mostrou resposta quadrática, com ponto de mínima na dose 12,35 mg L⁻¹ nas micorrizadas e pico na dose 11,33 mg L⁻¹ nas não micorrizadas (Figura 37b). O acúmulo de Zn nas plantas micorrizadas cultivadas na fibra de coco mostrou resposta linear descendente com as doses crescentes de Cu aplicadas. Para todos os demais tratamentos, não houve ajuste significativo. Na casca de pinus, as plantas micorrizadas apresentaram maior acúmulo de Zn que as não micorrizadas nas doses 0, 5 e 30 mg L⁻¹. As plantas obtidas na casca de pinus mostraram maior acúmulo de Zn que as plantas dos demais tratamentos.

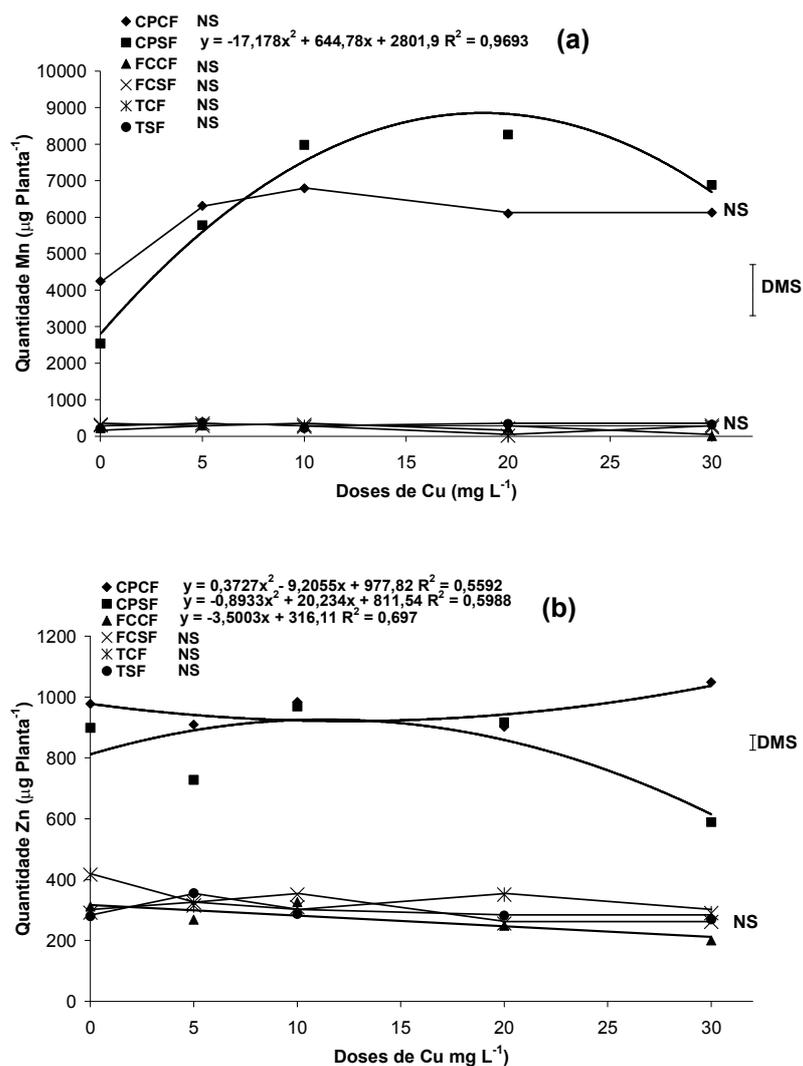


Figura 37. Quantidade Acumulada de Manganês (Mn) (a) e Zinco (Zn) (b) da parte aérea de plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%.

4.2.6 Índice de Eficiência de Uso (IEU)

Nas plantas que tiveram a turfa como substrato de cultivo, o IEU do P não mostrou ajuste significativo. Nas plantas crescidas na casca de pinus, independentemente da micorrização, e nas micorrizadas cultivadas na fibra de coco o índice apresentou resposta linear descendente com as doses crescentes de Cu aplicadas. Nas plantas não micorrizadas cultivadas na fibra de coco o ajuste foi quadrático com com ponto de mínima na dose $23,31 \text{ mg L}^{-1}$. O maior IEU do P foi obtido pelas plantas não micorrizadas desenvolvidas na turfa, que diferiu estatisticamente de todos os demais

tratamentos, seguidas pelas mudas micorrizadas cultivadas nesse mesmo substrato. As plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus diferiram das não micorrizadas apenas quando o Cu não foi aplicado e na dose 5 mg L^{-1} , sendo estatisticamente superiores. A menor eficiência de uso foi encontrada nas plantas micorrizadas que tiveram a fibra de coco como substrato de cultivo. Quando comparadas às não micorrizadas apresentou IEU de P superiores, exceto na dose 5 mg L^{-1} (Figura 38a).

O IEU do Cu nas plantas cultivadas em casca de pinus mostrou resposta quadrática com ponto de mínima na dose $26,44 \text{ mg L}^{-1}$ nas micorrizadas e $20,51 \text{ mg L}^{-1}$ de Cu nas não micorrizadas. Nas plantas micorrizadas crescidas na fibra de coco apresentou resposta linear descendente com o aumento das doses de Cu aplicadas e nas não micorrizadas resposta quadrática com ponto de mínima na dose $22,69 \text{ mg L}^{-1}$ de Cu. Nas plantas cultivadas na turfa não houve ajuste significativo. As plantas micorrizadas cultivadas na casca de pinus mostraram maior IEU Cu nas doses 0, 10 e 20 mg L^{-1} de Cu, estatisticamente distintas das não micorrizadas. Independentemente da micorrização, plantas cultivadas em casca de pinus apresentaram os maiores IEU de Cu em relação aos demais tratamentos. Plantas crescidas na fibra de coco e em turfa não apresentaram diferença estatística entre si, quanto à micorrização (Figura 38b).

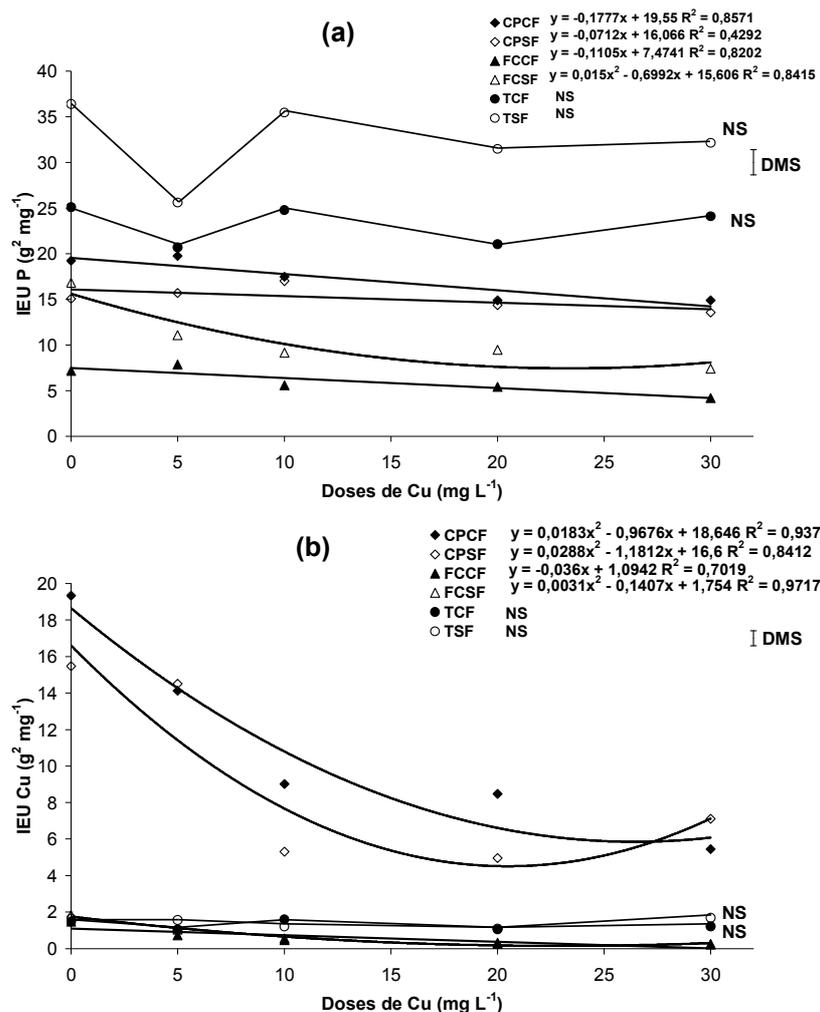


Figura 38. Índice de Eficiência de Uso (IEU) do Fósforo (P) (a) e do Cobre (Cu) (b) em plantas micorrizadas (CF) e não micorrizadas (SF) de limoeiro ‘Cravo’ com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e trufa (T) como substratos de cultivo. DMS – Diferença mínima significativa a 5%.

4.2.7 Variáveis de Micorrização

O comprimento de raiz do limoeiro ‘Cravo’ colonizada pelo fungo *Glomus intraradices* foi estatisticamente superior nas plantas cultivadas no substrato turfa quando comparada à dos demais tratamentos. A colonização das plantas que cresceram na fibra de coco e na casca de pinus apenas diferiu nas doses 5 e 10 mg L⁻¹ de Cu, sendo que na fibra de coco as plantas apresentaram maiores porcentagens de colonização (Tabela 16).

Para o comprimento do micélio externo total (Tabela 17), com exceção do tratamento onde não se aplicou o Cu, na turfa ocorreu o maior valor de MET.

Tabela 16. Colonização do fungo *Glomus intraradices* em plantas de limoeiro ‘Cravo’, com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo.

Doses de Cu	CP	FC	T
mg L ⁻¹	%	%	%
0	18 b*	42 b	73 a
5	25 c	45 b	81 a
10	28 c	48 b	83 a
20	17 b	30 b	83 a
30	22 b	17 b	86 a

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Tabela 17. Comprimento do micélio externo total (MET) do fungo *Glomus intraradices*, após cultivo de limoeiro ‘Cravo’, com a aplicação de diferentes doses de Cu, utilizando casca de pinus (CP), fibra de coco (FC) e turfa (T) como substratos de cultivo.

Doses de Cu (mg L ⁻¹)	CP	FC	T
	m g ⁻¹ substrato	m g ⁻¹ substrato	m g ⁻¹ substrato
0	2,95 a*	3,13 a	4,12 a
5	1,66 b	1,61 b	9,44 a
10	2,30 c	5,53 b	10,38 a
20	1,32 c	5,97 b	8,64 a
30	1,46 c	6,23 b	9,51 a

*Letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

5 DISCUSSÃO

Vários fatores concorrem para a otimização do efeito da micorrização na produção de mudas, como o melhor momento para a inoculação do FMA e o substrato a ser utilizado, pois modulam o estabelecimento e o desempenho da associação micorrízica (SILVEIRA & GOMES, 2007).

Já se constatou que o quanto antes a planta é colonizada pelo FMA e uma simbiose ativa se estabelece, melhor é a resposta da planta e mais eficiente pode ser a associação. Neste presente trabalho, a fase de inoculação do FMA para obtenção da muda micorrizada influenciou significativamente as respostas obtidas.

Quando a inoculação do FMA ocorreu na semeadura (experimento 1), ao longo do período em que as plantas de limoeiro ‘Cravo’, cultivadas na fibra de coco, permaneceram em casa de vegetação, a altura das plantas micorrizadas e não micorrizadas não variou, sendo que na dose 5 mg L⁻¹ de Cu houve os maiores valores

de altura (Figuras 1a,b). Já na casca de pinus, as plantas micorrizadas, 80 dias após o transplante, alcançaram uma altura de 60 cm com a aplicação da maior dose de Cu (30 mg L^{-1}) (Figura 2a), o que só foi atingido aos 100 dias pelas não micorrizadas, na mesma dose de Cu (Figura 2b). Quando a inoculação do FMA foi realizada no transplantio (experimento 2), nas plantas cultivadas na fibra de coco (Figura 20a,b), a altura de 60 cm foi atingida em torno dos 120 dias após o transplante, com a dose 5 mg L^{-1} de Cu nas não micorrizadas e 10 mg L^{-1} nas micorrizadas. Todavia a micorrização se mostrou mais benéfica nos primeiros 25 dias após o transplante, quando a altura das plantas estava, aproximadamente, 5 cm maior quando comparadas às não micorrizadas. Para a casca de pinus também se evidenciou esse efeito inicial positivo da micorrização, com as plantas colonizadas por *Glomus intraradices* apresentando 10 cm mais de altura em relação às não micorrizadas quando o Cu não foi aplicado (Figura 21a,b).

Um fator importante no desenvolvimento do porta-enxerto é o diâmetro do caule, porque o maior desenvolvimento em diâmetro pode antecipar o tempo de enxertia (SCHÄFER et al., 2006). Com a pré-inoculação do FMA na sementeira, apenas nas plantas micorrizadas crescidas na casca de pinus o ponto de enxertia foi alcançado, em torno de 120 dias após o transplante, na dose 30 mg L^{-1} de Cu aplicado (Figura 4). Com a inoculação do FMA no transplantio, nas plantas cultivadas na casca de pinus, o diâmetro do caule atingiu 7 mm, tanto nas micorrizadas como nas não micorrizadas, em torno de 75 dias após o transplante, com a aplicação das menores doses de Cu (0 e 5 mg L^{-1} de Cu). Porém, até 25 dias após o transplante, as plantas micorrizadas apresentaram diâmetro 1 mm maior que as não micorrizadas (Figura 24a,b). Esse efeito positivo da micorrização na fase inicial do desenvolvimento das plantas pode ser devido à maior exploração dos substratos de cultivo e absorção de água e nutrientes via FMA (SILVEIRA, 1992).

Com a inoculação do FMA na sementeira, plantas micorrizadas e cultivadas em casca de pinus praticamente alcançaram o ponto de enxertia, 7 mm a 5 cm do colo da planta (ESPOSTI & SIQUEIRA, 2004). O mesmo resultado não foi observado pelas micorrizadas que cresceram na fibra de coco e nem pelas não micorrizadas (Tabela 7), mostrando a otimização do efeito da micorrização na sementeira (pré-inoculação) e do substrato aparentemente mais adequado (casca de pinus). Com a inoculação do FMA no transplantio, nas plantas que tiveram a casca de pinus como substrato de cultivo, a

adição da maior dose de Cu resultou na diminuição do diâmetro do caule das plantas de limoeiro 'Cravo' (Figura 27a), o que indica, provavelmente, toxicidade do elemento.

Ao final do período experimental, comparando-se os substratos de cultivo utilizados, constatou-se que as plantas cultivadas em casca de pinus, independentemente da micorrização, apresentaram maior crescimento em termos de altura, diâmetro e MSPA. Estes resultados discordam dos obtidos por MAIORANO (2003), cujos resultados mostram que o substrato que melhor desenvolvimento proporcionou às plantas de limoeiro 'Cravo' foi a fibra de coco suplementada com fertilizantes químicos (Golden Mix 47), principalmente com a inoculação de *Glomus intraradices*. Todavia, concordam com os de TRISTÃO (2005) que obteve com a casca de pinus, mesmo sem correção do nível de fertilidade, maiores valores de crescimento para mudas de cafeeiro. Ainda, FOCESATO et al. (2006) obtiveram a maior crescimento de porta-enxertos cítricos nesse mesmo substrato. Como mostram as análises de fertilidade dos substratos (Tabela 3), esse efeito pode ser decorrente do maior nível de fertilidade inicial da casca de pinus.

O crescimento das plantas micorrizadas e não micorrizadas quando cultivadas na turfa, (Figura 27a, b, c) não mostrou diferença, o que discorda de MENGE et al. (1982) que constataram que substratos ricos em matéria orgânica prejudicam a colonização das raízes e os posteriores efeitos benéficos conferidos pelos FMAs. Entretanto, SOUZA et al. (1997) observaram que, embora rico em matéria orgânica, o substrato à base de turfa não prejudicou o estabelecimento e eficiência dos FMAs; ao contrário, proporcionou plantas com maior diâmetro do caule, o que possibilitaria a antecipação da enxertia, ou seja, redução do período de produção de mudas.

Segundo GONZÁLES et al. (2000) relação C/N acima de 30/1 é inadequada para que um substrato possa ser utilizado na produção de mudas, já que pode ocasionar imobilização de nutrientes, principalmente N, o que prejudicaria o desenvolvimento das plantas. Apenas na turfa foi encontrada relação C/N menor que a referida acima, o que pode ter influenciado, positivamente, no crescimento das mudas, que quando cultivadas nesse substrato superaram às crescidas na fibra de coco (Tabela 6).

O efeito da micorrização nos substratos não ocorreu da forma esperada, uma vez que, geralmente, maior efeito micotrófico é observado em substratos com baixo nível de fertilidade, que no caso seria a fibra de coco. Contudo, a inoculação do *Glomus intraradices* sempre promoveu benefícios, principalmente nas plantas crescidas em

casca de pinus, no experimento com pré-inoculação do FMA, o que, todavia, não ocorreu quando foi feita a inoculação apenas no transplantio. Também TRISTÃO (2005) observou que a micorrização influenciou positivamente o crescimento das mudas de café mesmo quando cultivadas em substrato comercial à base de casca de pinus adubado.

As análises dos pigmentos fotossintetizantes podem ajudar na determinação do estado fisiológico da planta, para detecção de estresse e na estimativa da produtividade (BLACKBURN, 1998). Segundo FERRI et al. (2005), os índices de clorofilas totais e carotenóides variam de acordo com o desenvolvimento das plantas, devido principalmente à porcentagem de cobertura, ao teor de água nas plantas e à área foliar. Com a pré-inoculação do FMA, as maiores concentrações de clorofila *a*, *b* e *a+b* (Figura 6a, b, c) foram obtidas nas plantas crescidas entre as doses 10 e 20 mg L⁻¹ de Cu e não se relacionou com a produção de MSPA (Figura 5b), pois, nas plantas que apresentaram maiores teores destes pigmentos, a MSPA não foi maior. GRASSI FILHO et al. (2001) em plantas de limoeiro 'Cravo' submetidas a diferentes substratos orgânicos de cultivo também fizeram a mesma observação. Porém, TRISTÃO (2005) encontrou relação positiva entre pigmentos fotossintéticos e MSPA, ou seja, plantas com as maiores concentrações de tais pigmentos apresentaram também maior produção de biomassa no cafeeiro. Nas plantas submetidas à inoculação do fungo por ocasião do transplantio, houve relação pois os maiores teores de pigmentos fotossintéticos (Figura 28a, b, c) ocorreram nas plantas crescidas em casca de pinus e turfa, que também apresentaram maior produção de MSPA (Figura 27c).

Aumento na atividade da redutase do nitrato pode estar relacionada a uma intensa atividade de redução assimilatória do nitrato (TAIZ & ZEIGER, 1998) ou a uma condição de estresse na planta, causada tanto por deficiência quanto por toxicidade de nutrientes (KASTORI e PETROVIC, 1989). Plantas cultivadas no substrato fibra de coco apresentaram maior atividade da RN que as obtidas na casca de pinus (Figura 7), no experimento em que a inoculação do FMA ocorreu na sementeira. Já quando a inoculação foi realizada no transplantio, as plantas micorrizadas de todos os substratos de cultivo mostraram maior atividade da RN com o aumento das doses de Cu aplicadas (Figura 29). Logo, tais resultados podem indicar um aumento na atividade dessa enzima como uma resposta da planta a uma situação de estresse causada pelo excesso de Cu adicionado, de maneira a prover uma maior quantidade de nitrogênio na forma

assimilável para produzir aminoácidos, quelatinas, enzimas relacionadas ao estresse oxidativo, etc.

Assim como a redutase do nitrato, a maior atividade da fosfatase ácida pode estar relacionada a uma condição de estresse na planta, além de ser um indicativo do estado nutricional de P na planta (ASCENCIO (1994; MALAVOLTA (1980). A maior atividade dessa enzima foi obtida nas plantas crescidas no substrato casca de pinus (Figura 8 e Tabela 13). Todavia, verificando-se o teor de P na parte aérea das plantas (Figura 11c e Tabela 15) observa-se que estavam adequados (BATAGLIA et al., 2008), ou seja, as plantas estavam bem nutridas em P. Além disso, a disponibilidade de P no substrato (Tabelas 4 e 5) não se relaciona com a atividade dessa enzima, pois no substrato casca de pinus há valores altos de P disponível. Resultados semelhantes foram obtidos por TRISTÃO (2005) que observou valores elevados de atividade dessa enzima em plantas de café em substrato à base de casca de pinus, que também mostrou altos teores de P disponível. Com a pré-inoculação do FMA, as plantas micorrizadas mostraram maior atividade da enzima fosfatase ácida (Figura 10), provavelmente devido ao maior desenvolvimento das plantas (Figura 5b), o que deve ter exigido a transformação de fósforo orgânico em inorgânico, mediado por essa enzima, de forma a suprir as necessidades das partes em crescimento.

A capacidade dos substratos de permitir o desenvolvimento de mudas de elevado potencial produtivo está intimamente associado às suas características químicas, as quais, de alguma forma, influenciam a disponibilidade de nutrientes (BIANCHI et al., 2003) e a absorção pela planta.

Na inoculação do FMA na sementeira, os teores de N, K, P, Ca, Mg, S, B, Mn e Zn da parte aérea das plantas diminuíram com o aumento das doses de Cu aplicadas ao substrato casca de pinus, enquanto que os teores de Cu e Fe aumentaram. As plantas micorrizadas apresentaram menores teores de Fe e Mn, o que pode ser explicado por algum efeito protetor advindo do FMA (NOGUEIRA & CARDOSO, 2003). Os mecanismos que influenciam na atenuação da toxicidade de Mn em plantas micorrizadas não são totalmente conhecidos, mas alguns resultados demonstram a atuação de processos pelos quais os metais são retidos nas hifas dos FMAs no interior das raízes (DEHN & SCHÜEPP, 1989), pela complexação com grânulos de polifosfato no micélio fúngico (GALLI et al., 1994), pela adsorção às hifas externas (JONER et al., 2000). Quando o substrato foi a fibra de coco, os teores de N, K, B e Cu aumentaram, os de P, Ca, S e Mn praticamente não variaram, enquanto os de Zn diminuíram em função

do aumento na dose de Cu aplicada. No geral, em ambos os substratos, plantas não micorrizadas superaram as micorrizadas quanto ao teor dos nutrientes na parte aérea. No experimento em que a inoculação do FMA foi realizada na fase de transplântio, os teores de N, K, Cu e Zn não foram influenciados pela micorrização. Os teores de N, P, Mg, S, Fe e Mn mostraram níveis mais elevados na parte aérea das plantas cultivadas na casca de pinus, enquanto que os teores de Cu e B foram maiores nas plantas desenvolvidas na fibra de coco. Os resultados sugerem que a micorrização não influenciou diretamente a nutrição mineral das plantas, mas promoveu benefício causando aumento no crescimento.

Baseando-se nos padrões nutricionais de BATAGLIA et al. (2008), para a parte aérea de mudas de limão 'Cravo', nas mudas crescidas em casca de pinus, obtidas em sementeira com a pré-inoculação do fungo, constatou-se que os teores de N, K, Mg e Zn variaram de adequado a deficiente; os de P, Cu e Fe mostraram-se adequados; Ca, S, B deficientes e, finalmente, o de Mn, excessivo. Nas plantas cultivada na fibra de coco, os teores de N, P e Fe foram adequados, os de K e Cu, excessivos, enquanto que os teores de Ca, Mg, S, B, Mn e Zn deficientes. Quando o FMA foi inoculado no transplântio, na parte aérea das mudas, os teores de N, Ca, Mg, S e B mostraram-se deficientes e o de Zn adequado nas obtidas nos três substratos de cultivo. Os teores de K e Mn na parte aérea foram excessivos nas plantas cultivadas na fibra de coco e deficientes nas da casca de pinus e turfa; o de P adequado na casca de pinus e deficiente na fibra de coco e turfa. O teor de Cu mostrou-se adequado apenas nas plantas crescidas na casca de pinus e excessivo nas demais. O teor de Fe foi adequado nas mudas obtidas na casca de pinus e fibra de coco, porém deficiente nas da turfa. Por fim, o teor de Mn mostrou-se excessivo nas plantas da casca de pinus e deficiente nas da fibra de coco e turfa.

Em todos os tratamentos, o teor de K da parte aérea das plantas crescidas na fibra de coco foi excessivo (BATAGLIA et al., 2008) e o de Mg e de Ca, deficiente. Segundo MALAVOLTA (1980), íons K^+ em altas concentrações podem interagir com íons Ca^{2+} numa inibição competitiva, o que pode ter ocorrido. Esses resultados podem ainda estar relacionados às baixas concentrações de Ca e Mg nos substratos (Tabelas 4 e 5), os quais não foram fornecidos na concentração adequada pela fertirrigação realizada durante o experimento. Ainda, segundo MARFÁ (1998) nutrientes como Ca e Mg em substratos com valores de pH abaixo de 4,5 podem ter sua disponibilidade sensivelmente reduzida. Valores de pH menores que 4,5 foram encontrados no substrato à base de casca de pinus de ambos os experimentos.

As plantas cultivadas na fibra de coco apresentaram os maiores teores de Cu na parte aérea. A diferença no teor de Cu da parte aérea das mudas em função do substrato pode estar relacionada aos processos de adsorção de Cu em substratos (PADUA JUNIOR, 2006). As reações de adsorção do Cu na superfície de colóides do solo são bastante fortes e ocorrem pela formação de complexos Cu-ligante de alta energia (FERREIRA & CRUZ, 1991). Assim, a disponibilidade desse elemento para as plantas é uma função da contribuição e da composição da fração orgânica do meio de crescimento. Uma vez que os substratos casca de pinus e turfa apresentam uma grande proporção de compostos orgânicos (MARTINEZ, 2002), é possível afirmar que o Cu tenha sido adsorvido. Portanto, sua menor disponibilidade no substrato refletiria na menor absorção e concentração na parte aérea.

O principal efeito observado (Experimento 1) foi o aumento significativo no teor de Cu nas plantas micorrizadas, mostrando o efeito benéfico da simbiose na absorção de outro elemento pouco móvel no solo além do P (ROCHA et al., 1995). Isso ocorreu com a utilização da fibra de coco, na qual todo o Cu aplicado possivelmente ficou disponível para a planta.

O limoeiro ‘Cravo’ cultivado em casca de pinus apresentou maior quantidade acumulada de todos os macronutrientes avaliados. As plantas micorrizadas obtidas pela pré-inoculação do FMA na sementeira (Experimento 1), no geral, apresentaram maiores acúmulos de macronutrientes na parte aérea quando comparadas às não micorrizadas. Esse resultado não se repetiu quando a inoculação do FMA foi realizada no transplântio (experimento 2). Para as plantas desenvolvidas na fibra de coco, embora o acúmulo de macronutrientes tenha sido inferior à casca de pinus (Experimento 1) também ocorreu que as plantas colonizadas por *Glomus intraradices* mostraram maiores quantidades acumuladas de macronutrientes. Ao se avaliar as plantas crescidas em turfa observa-se que, no geral, acumularam mais macronutrientes que as cultivadas na fibra de coco, independentemente da micorrização (Experimento 2). O acúmulo de micronutrientes, com exceção do Cu, foi maior na parte aérea das plantas desenvolvidas na casca de pinus, independentemente da micorrização, em ambos os experimentos.

O maior IEU do P (Figura 19a) foi observado nas plantas micorrizadas crescidas em casca de pinus, aumentando com as doses de Cu aplicadas, o que pode ser traduzido em maior aproveitamento do P pelas plantas colonizadas por *Glomus intraradices*, quando a inoculação foi realizada na sementeira, ou seja, as plantas tornaram-se micorrizadas precocemente. Já quando a inoculação do FMA foi feita por ocasião do

transplântio, o maior IEU do P (Figura 38a) foi obtido pelas plantas não micorrizadas cultivadas em turfa. Para ambas as fases de inoculação do fungo micorrízico, plantas cultivadas na fibra de coco, independentemente da micorrização, apresentaram o menor IEU de P. De forma geral, o maior IEU de Cu foi obtido pelas plantas micorrizadas e cultivadas em casca de pinus, indicando que, nesse substrato a micorrização proporcionou conversão significativa do Cu absorvido em biomassa vegetal, o que é um benefício da simbiose, uma vez que aumenta a absorção deste micronutriente pouco móvel no solo. Quanto maior as doses de Cu aplicadas ao substrato menor o IEU de Cu, possivelmente devido ao estresse causado pelas maiores doses de Cu aplicadas, pois o Cu atingiu níveis tóxicos na planta. As plantas micorrizadas, mesmo nas maiores doses de Cu, apresentaram maior IEU do Cu absorvido (Figura 19b, 38b).

A determinação do micélio extraradicular total (MET) é importante porque este componente da micorriza desempenha um importante papel no sistema micorrízico, constituindo uma estrutura de absorção adicional à raiz, que capacita a planta para obter nutrientes, que, de outra forma, não lhe seriam acessíveis (SILVEIRA, 1992). Após o cultivo das plantas, obtidas na pré-inoculação do FMA na sementeira, constatou-se que o maior comprimento do micélio externo total (MET) ocorreu na fibra de coco (Tabela 11), independentemente da dose de Cu adicionada, apesar de a colonização radicular não ter variado. Quando foi realizada a inoculação no transplântio, o comprimento do MET (Tabela 17) foi maior no substrato turfa e se relacionou com a porcentagem de colonização, que também foi maior nas plantas crescidas nesse substrato (Tabela 16). Essa relação entre o MET e a colonização radicular também já foi relatada por BETHLENFALVAY et al. (1982); ABBOTT e ROBSON (1985). No entanto, isso não foi observado por TRISTÃO (2005), onde plantas de cafeeiro com baixa colonização mostraram tanto alto quanto baixo comprimento de micélio externo, em diferentes substratos orgânicos. Na turfa foram encontrados níveis baixos de P, possivelmente por ter sido fixado pelas matérias orgânica e mineral presentes em sua constituição (LEMAIRE e DARTIGUES, 1988), o que pode ter favorecido a colonização radicular pelo FMA, pois, segundo NOGUEIRA e CARDOSO (2006), teores elevados de P disponível reduzem a colonização radicular de mudas de limoeiro ‘Cravo’ por *Glomus intraradices*, o que pode ter ocorrido com a casca de pinus na qual a concentração de P estava elevada. Normalmente, substratos ricos em matéria orgânica prejudicam a colonização das raízes (MENGE et al., 1982). No entanto, SOUZA et al. (1997) constataram que plantas micorrizadas e cultivadas em substrato à base de turfa, rico em

matéria orgânica, desenvolveram-se perfeitamente, com um nível de colonização semelhante ao encontrado no substrato à base de areia silícea. Todavia, as plantas cultivadas na turfa, mesmo apresentando a maior colonização radicular em relação aos demais substratos, não apresentaram o maior crescimento, fato que confirma que o desempenho da simbiose e a eficiência do FMA independem da infectividade do fungo (SILVEIRA et al., 2003).

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) Para o manejo da solução nutritiva adotado, o melhor desenvolvimento das mudas ocorreu no substrato casca de pinus, no qual também se observou melhor desempenho da micorrização.
- b) Quando a inoculação do FMA foi feita na sementeira, as plantas mostraram maior crescimento nas menores doses de Cu adicionadas, diminuindo com o aumento da concentração de Cu.
- c) Quando a inoculação foi realizada no transplante, a adição das doses crescentes de Cu aumentou o crescimento das plantas de limoeiro ‘Cravo’.
- d) A fase de inoculação do fungo micorrízico, o tipo de substrato e a solução nutritiva a ser empregada são fatores determinantes da produção de mudas micorrizadas de limoeiro ‘Cravo’.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. Formation of external hyphae in soil by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v.99, p.245-255, 1985.

ABREU, M.F.; ABREU, C.A.; BATAGLIA, O.C. Uso da análise química na avaliação da qualidade de substratos e componentes. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 3., Campinas, 2002. **Documentos IAC 70**. Campinas, Instituto Agrônomo, 2002. p.18-22.

ABREU, M.F.; FURLANI, A.M.C.; ABREU, C.A.; SANTOS, P.H.; GONZALEZ, A.P. Total element concentration quantification in substrates. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SOILLESS CULTURE AND HYDROPONICS**, 9., 2004, Almeria: Universidad de Almeria, 2004.

ALLEN, E.B.; ALLEN, M.F. Water relations of xeric grasses in the field: interactions of mycorrhizas and competition. **New Phytologist**, n.104, p.559-571, 1986.

ANTUNES, V.; CARDOSO, E.J.B.N. O fósforo e a micorriza vesículoarbuscular no crescimento de porta-enxeros de citros cultivados em solo natural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.14, n.3, p.277-282, 1990.

ASCENCIO, J. Acid phosphatase as a diagnostic tool. **Communications in Soil Science and Plant Analyzes**, v.25, p.1553-1564, 1994.

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas, Instituto Agrônomo, 1983. 48 p. (Boletim técnico, 78).

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; FERRAREZI, R.S.; MEDINA, C.L. **Padrão nutricional de mudas de citros**. Boletim Técnico Conplant/Vivecitros, 2008, 40 p.

BESFORD, R.T. A rapid tissue test for diagnosing phosphorus deficiency in tomato plant. **Annals of Botany**, London, v.45, p.227-335, 1980.

BETHLENFALVAY, G.J.; BROWM, M.S.; PACOVSKY, R.S. Relationships between host and endophyte development in mycorrhizal soybeans. **New Phytologist**, v.90, p.537-543, 1982.

BIANCH, V.J.; MACHADO, L.B.; RODRIGUES, L.T.; COFCEWICZ, E.T.; MEDEIROS, C.A.B. Caracterização química e eficiência de dois substratos na produção de porta-enxertos de citros em recipientes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, p.75-77, 2003.

BLACKBURN, G.A. Spectral indices for estimating photosynthetic concentrations: a test using senescent tree leaves. **International Journal of Remote Sensing**, v.19, n.4, p.657-675, 1998.

BOA VENTURA, P.S.R. **Demanda por nutrientes de mudas cítricas produzidas em substrato em ambiente protegido**. 2003. Dissertação (de Mestrado) - Instituto Agrônomo, Campinas.

BUNT, A.C. Some physical properties of pot-plant compost and their effect on plant growth. I. Bulky physical conditioners. **Plant and Soil**, v.12, n.4, p.322-332, 1961.

BUSSLER, W. Physiological functions and utilization of copper. In: LONERAGAN, J.F.; ROBSON, A.D.; GRAHAM, R.D. (Ed.). **Copper in soil and plants**, p.213-234, 1981.

CARDOSO, E.J.B.N.; ANTUNES, V.; SILVEIRA, A.P.D. da; OLIVEIRA, M.H.A. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em porta-enxertos de citros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, n.1, p.25-30, 1986.

CARDOSO, J.B.N. & LAMBAIS, M.R. Aplicações práticas de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA). In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Coord.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.283-296, 1992.

CARDOSO FILHO, J.A.; PACOVSKY, R.S.; CARDOSO, E.J.B.N. Growth and metabolic activity of the extrametrical mycelium of endomycorrhizal maize plants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, n.4, p.807-815, 1999.

CARRIJO, O.A.; LIZ, R.S.; MAKISHIMA, N. Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. **Horticultura Brasileira**, v.20, n.4, p.533-535, 2002.

CARVALHO, S.A. de; SOUZA, M. de. Doses e frequência de aplicação de nitrato de potássio no crescimento do limoeiro 'Cravo' e da tangerina 'Cleópatra' em bandejas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.31, n.11, p.815-822, 1996.

CARVALHO, S.A. de; GRAF, C.C.D.; VIOLANTE, A.R. Produção de material básico e propagação. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Editores). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. p.281-316.

COLOZZI-FILHO, A.; SIQUEIRA, J.O. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. I. Efeito da inoculação e adubação fosfatada no crescimento e nutrição. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, p.199-205, 1986.

DEHN, B.; SCHÜEPP, H. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.29, p.79-83, 1989.

DONADIO, L.C. Avaliação de três substratos para semeadura de porta-enxertos para citros em bandeja. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.13, n.1, p.67-73, 1991.

ESPOSTI, M.D.D.; SIQUEIRA, D.L. de. Doses de uréia no crescimento de porta-enxertos de citros produzidos em recipientes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.1, p.136-139, 2004.

FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. da Cobre. In: FERREIRA, M.E.; CRUZ, M.C.P. da (Editores). **Citros**. Piracicaba: PATAFOS/CNPq, 1991. p.131-157.

FERRI, C.P.; FORMAGGIO, A.R.; SCHIAVINATO, M. A. Avaliação de índices de pigmentos fotossintéticos na estimativa da concentração de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides nas diferentes fases de desenvolvimento da cultura da soja (*Glycine max* (L.), Merrill), Anais X SBSR, p.21-26, 2005.

FOCHESATO, M.L.; SOUZA, P.V.D. de; SHÄFER, G.; MACIEL, H.S. Produção de mudas cítricas em diferentes porta-enxertos e substratos comerciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1397-1403, 2006.

FOCHESATO, M.L.; SOUZA, P.V.D. de; SHÄFER, G.; MACIEL, H.S. Crescimento vegetativo de porta-enxertos de citros produzidos em substratos comerciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.970-975, 2007.

FONSECA, E.B.A.; OLIVEIRA, E.; SOUZA, M.; CARVALHO, J.G. Efeitos do fósforo e fungo MVA na nutrição de dois porta-enxertos de citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, p.1889-1896, 1994.

FUNDECITRUS. Ministério da Agricultura elabora nova lei de mudas. **Revista do Fundecitrus**. ed. 124, p.15-16, 2004.

GALLI, U.; SCHÜEPP, H.; BRONOLD, C. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. *Physiology Plant*, v.92, p.364-368, 1994.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet silving and decanting. **Transaction of the British Mycological Society**, v.46, p.235-244, 1966.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, p.489-500, 1980.

GONZÁLES, A.L. Substrato para a produção de mudas de plantas ornamentais. In: MINAMI, K. **Produção de mudas de alta qualidade em horticultura**. São Paulo T.A. Queiroz, 1995, p.107-115.

GONZÁLEZ-CHÁVES, M.C.; FERRERA-CERRATO, R.; VILLEGAS-MONTER, A. Y; OROPEZA, J.L. Selección de sustratos de crecimiento en microplantulas de citricos inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19. **Terra**, v.18, n.4, p. 369-377, 2000.

GRAF, C.C.D. Vivecitrus e a produção de mudas certificadas. **Laranja**, v.22, n.2, p.549-559, 2001.

GRASSI FILHO, H.; PEREIRA, M.A.A.; SAVINO, A.A.; RODRIGUES, V.T. Crescimento de mudas de limoeiro “Cravo” (*Citrus limonea* Osbeck) em diferentes sustratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.21, n.2, p.186-190, 1999.

GRASSI FILHO, H.; PEREIRA, M.A.A.; SAVINO, A.A.; RODRIGUES, V.T. Efeito de diferentes sustratos no crescimento de mudas de limoeiro ‘Cravo’ até o ponto de enxertia. **Laranja**, v.22, n.1, p.157-166, 2001.

GRHAM, J. H.; LINDERMAN, R, G.; MENGE, J. A. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal, *Glomus* spp in relation to root colonization and growth of Troyer Citrange. **New Phytologist**, v.91, n.2, p.183-189, 1982.

GREVE, A.; PRATES, H.S. Matrizes de citros – Plano de emergência. **Laranja**, v.7, n.1, p.251-275, 1986.

GRUPO PAULISTA DE ADUBAÇÃO E CALAGEM PARA CITROS (GPACC) Recomendações de Adubação e calagem para citros no Estado de São Paulo. 3 ed. 27 p. Edição especial da revista **Laranja**. Cordeirópolis, 1994.

HARMSSEN, K.; VLEK, P.L.G. The chemistry of micronutrients in soil. **Fertilizer Research**, v.7, p.1-42, 1985.

HAGEMAN, R.H.; FLESHER, D. Nitrate reductase activity in corn seedling as effected by light and nitrate content of nutrient media. **Plant Physiology**, v.35, p.700-708, 1960.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Dis. Resp.**, v.48, p.692, 1964.

JONER, E.J.; BRIONES, R.; LEYVAL, C. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. **Plant and Soil**, v.226, p.227-234, 2000.

KÄMPF, A.N. O uso de substrato em cultivo protegido no agronegócio brasileiro. In: Caracterização, manejo e qualidade de sustratos para a produção de plantas. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 3., Campinas, 2002. **Documentos IAC 70**. Campinas, Instituto Agrônômico, 2002. p.1-6.

KASTORI, R.; PETROVIC, N. Effect of boron on nitrate reductase activity in young sunflower plants. **Journal of plant nutrition**, v.12, n.5, p.621-632, 1989.

LEMAIRE, F.; DARTIGUES, A. Phosphorus assimilability in French brown peat. **Acta Horticulturae**, v.221, p.383-394, 1988.

LICHTENTHALER, H.K.; WELLBURN, A. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v.11, p.591-592, 1983.

LIMA, J.E.O. de. Novas técnicas de produção de mudas cítricas. **Laranja**, v.7, n.2, p.463-468, 1986.

LOPES, E.S.; SIQUEIRA, J.O.; ZAMBOLIM, L. Caracterização das micorrizas vesicular-arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.7, n.1, p.1-19, 1983.

MAIORANO, J.A.; VIEIRA, M.R.; SILVEIRA, A.P.D. Características microbiológicas de substratos orgânicos. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 3., Campinas, 2002. **Documentos IAC 70**. Campinas, Instituto Agrônomo, 2002. p. 98.

MAIORANO, J.A. **Utilização de substratos orgânicos comerciais na obtenção de mudas micorrizadas de limoeiro "Cravo" em ambiente protegido**. 2003. Dissertação (de Mestrado) - Instituto Agrônomo, Campinas.

MALAVOLTA, E. **Elementos da nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Ceres, 1980. 251 p.

MALAVOLTA, E.; VIOLANTE NETO, A. **A nutrição mineral, calagem, gessagem e adubação dos citros**. Piracicaba: Potafos, 1989. 153 p.

MARFÁ, O. **Curso de Fertirrigacion, substratos y cultivos sin solo**. Itajai: Epagri, 1998. 52 p.

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.159, n.1, p.89-102, 1994.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. **Academic Press**, London, 1995.
MATOS, R. M. B.; SILVA, E. M. R. da; LIMA, E. **Fungos micorrízicos e nutrição de plantas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999, 36 p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 98).

MARTINEZ, P.F. Manejo de substratos para a horticultura. In: **Encontro nacional sobre substrato para plantas**, 3., 2002, Campinas, 2002. p.7-15, 2002. (Documentos IAC, 70).

MATTOS JUNIOR, D.; POMPEU JUNIOR, J.; FIGUEIREDO, J.O.; Citros: Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas. **Boletim Técnico 200**, IAC, p.111-114, 1998.

MELLONI, R.; CARDOSO, E.J.B.N. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas e endófitos. I. Método empregado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, n.1, p.53-58, 1999 a.

MELLONI, R.; CARDOSO, E.J.B.N. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. II. Comparação entre diferentes espécies cítricas e endófitos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.23, n.1, p.59-67, 1999 b.

MELLONI, R.; NOGUEIRA, M.A.; FREIRE, V.F.; CARDOSO, E.J.B.N. Fósforo adicionado e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição mineral do limoeiro-cravo [*Citrus limonea* (L.) OSBECK]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, n.4, p.767-775, 2000.

MENGE, J.A.; JOHNSON, E.L.V.; PLATT, R.G. Mycorrhizal dependence of several citrus cultivars under three nutrient regimes. **New Phytologist**, v.81, p.553-559, 1978.

MENGE, J.A.; JARRELL, W.M.; LABANAUSKAS, C.K.; OJALA, J.C.; HIESAR, C.; JOHNSON, E.L. V.; SIBERT, D. Predicting mycorrhizal dependency of Troyer Citrange on *Glomus fasciculatus* in California citrus soils and nursery mixes. **Soil Science Society of América Journal**, v.46, p.762-768, 1982.

MILNER, L. Manejo de irrigação e fertirrigação em substratos. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 3., Campinas, 2002. **Documentos IAC 70**. Campinas, Instituto Agrônomo, 2002. p.45-51.

MORTVEDT, J.J. Micronutrient fertilizers and fertilization practices. **Fertilizer Research**, v.7, p.221-235, 1985.

NOGUEIRA, M.A.; CARDOSO, E.J.B.N. Mycorrhizal effectiveness and manganese toxicity in soybean as affected by soil type and endophyte. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.329-335, 2003.

NOGUEIRA, M.A.; CARDOSO, E.J.B.N. Plant growth and phosphorus uptake in mycorrhizal rangpur lime seedlings under different levels of phosphorus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.93-99, 2006.

OLIVEIRA, J.R. ROMEIRO, R.S. Compostos fenólicos, idade da folha e resistência do cafeeiro a *Pseudomonas cicgorii* e *Pseudomonas syringae*, pv. Garcae. **Revista Ceres**, v.38, p.445-452, 1991.

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, P.R.; FERRAREZI, R.S.;MEDINA, C.L. **Padrão nutricional de mudas de citros**. Boletim Técnico Conplant/Vivecitrus. Araraquara: Conplant/Vivecitrus, 2008. 40 p.

PADUA JUNIOR, A.L. **Determinação da disponibilidade de cobre em substratos**. 2006. Dissertação (de Mestrado) - Instituto Agronômico, Campinas.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesiculo-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v.55, n.1, p.158-160, 1970.

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Editores). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. p.61-104.

PRATES, H.S.; GREVE, A.; PAGGIANO FILHO, A. Programa de plantas matrizes de citros no Estado de São Paulo: situação atual. **Laranja**, v.9, n.2, p.327-355, 1998.

ROCHA, M.R.; CORRÊA, G.C.; OLIVEIRA, E. Efeito de fungos MVA e doses de fósforo nos teores de nutrientes em tangerina “Cleópatra”. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.10, p.1253-1258, 1995.

RUIZ-LOZANO, J.M.; AZCÓN, R. Mycorrhizal colonization and drought stress as factors affecting nitrate reductase activity in lettuce plants. **Agric. Ecosyst. Environ.**, v.60, p.175-181, 1996.

SAGGIN JÚNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O. Avaliação da eficiência simbiótica de fungos endomicorrízicos para o cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.19, n.2, p.221-228, 1995.

SAGGIN JÚNIOR, O.J.; LOVATO, P.E. Aplicação de micorrizas arbusculares na produção de mudas e plantas micropropagadas. In: INTER-RELAÇÃO FERTILIDADE, BIOLOGIA DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS. SOIL FERTILITY, SOIL BIOLOGY, AND PLANT NUTRITION INTERRELATIONSHIPS/editores: SIQUEIRA, J.O. [et al.], Viçosa: SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. p.725-773.

SAITO, S.M.T.; MARTINS, E.C.S.; FREITAS, J.R. de; ROSTON, A.J. Ocorrência natural de micorriza e *Rhizobium phaseoli* em áreas com feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.18, n.3, p.855-861, 1983.

SCHÄFER, G.; SOUZA, P.V.D. de; KOLLER, O.C.; SCHWARZ, S.F. Desenvolvimento vegetativo inicial de porta-enxertos cítricos cultivados em diferentes substratos. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1723-1729, 2006.

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Normas de medidas de defesa sanitária vegetal e certificação de conformidade fitossanitária de mudas cítricas do Estado de São Paulo. Coordenadoria de Defesa Agropecuária. Portaria n. 5, de 03 de fevereiro de 2005).

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Ratifica os termos da Portaria CDA-5, de 03 de fevereiro de 2005, a Instrução Normativa nº 16, de 18/03/2003 e Instrução Normativa nº 10, de 18 de março de 2005 que restringem a produção de mudas a “céu aberto”. Resolução n. 10, de 29 de março de 2006.

SCHMILEWSKI, G.K. Aspects of the raw material peat-resources and availability. **Acta Horticulturae**, n.150, p.601-610, 1984.

SENA, J.O.A.; LABATE, C.A.; CARDOSO, E.J.B.N. Caracterização fisiológica da redução de crescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, n.5, p.827-832, 2004.

SGHERRI, C.L.M.; NAVARI-IZZO, F. Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defence mechanisms. **Physiol Plant**, v.93, p.25-30, 1995.

SIDDIQI, M.Y.; GLASS, A.D.M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.4, p. 289-312, 1981.

SILVA, L.H.B.; MIRANDA, J.C.C.; MIRANDA, L.N. Efeito da micorriza vesículo-arbuscular no crescimento de variedades de trigo sensível e tolerante ao alumínio, em solo de cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p.407-414, 1994.

SILVEIRA, A.P.D. Micorrizas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (Coord.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.257-282.

SILVEIRA, A.P.D.; SILVA, L.R. da; AZEVEDO, I.C. de; OLIVEIRA, E. de; MELLETTI, L.M.M. Desempenho de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, em diferentes substratos. **Bragantia**, v.62, n.1, p.89-99, 2003.

SILVEIRA, A.P.D.; GOMES, V.F.F. **Micorrizas em plantas frutíferas tropicais. In: Microbiota do solo e qualidade ambiental. (Ed.)**. SILVA, A.P.D.; FREITAS, S.S. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. p.57-77.

SILLANPÄÄ, M. Problems involved in estimating the micronutrient status of soils. In: FAO. **Soil and plant testing and analysis**. Roma, 1980. p.140-151.

SIQUEIRA, J.O.; MAHMUD, D.W.; HUBBELL, D.M. Comportamento diferenciado de fungos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares em relação à acidez do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, n.1, p.11-16, 1986.

SIQUEIRA, J.O.; COLLOZI-FILHO, A. Micorrizas vesículo-arbusculares em mudas de cafeeiro. II. Efeito do fósforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, n.3, p.207-211, 1986.

SIQUEIRA, J.O.; COLLOZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E.; FERNANDES, A.B.; FLORENCE, M.L. Micorrizas vesicular-arbusculares em mudas de cafeeiro produzidas no sul do Estado de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.22, n.1, p.31-38, 1987.

SCHMITZ, J.A.K.; SOUZA, P.V.D.; KÄMPF, A.N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. **Ciência Rural**, v.32, n.6, p.937-944, 2002.

SOUZA, P.V.D. de; BERJON, M.A.; ORENGA, V.A.; FONFRIA, M.A. Desenvolvimento do citrange 'Troyer' infectado com fungo micorrízico, em dois substratos de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.10, p.1039-1045, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Massachusetts: Sinauer, 1998, 197 p.

TEÓFILO SOBRINHO, J. FIGUEIREDO, J.O. Diversificação do uso de porta-enxertos na citricultura paulista. **Laranja**, Cordeirópolis, v.5, p.403-417, 1984.

TRISTÃO, F.S.M. **Produção de mudas micorrizadas de cafeeiro em diferentes substratos orgânicos**. 2005. Dissertação (de Mestrado) - Instituto Agronômico, Campinas.

TRISTÃO, F.S.M.; ANDRADE, S.A.L.; SILVEIRA, A.P.S. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. **Bragantia**, Campinas, v.65, p.649-658, 2006.

ZANETTI, M.; FERNANDES, C.; CAZETTA, J.O.; CORÁ, J.E.; MATTOS Jr., D. Caracterização física de substratos para a produção de mudas cítricas sob telado. **Laranja**, v.24, p.519-530, 2003.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)