

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO
AMBIENTE

**EFEITO DA COLONIZAÇÃO COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
(*Rhizophagus clarus*) NA PRODUTIVIDADE DE PLANTAS DE TABACO
(*Nicotiana tabacum* L.) SUBMETIDAS A DIFERENTES DOSES DE ADUBAÇÃO
NITROGENADA**

GISELE FABIANI ENDRES

Orientadora: Prof^a. Dr. Sueli Teresinha Van Der Sand
Co-orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade Filho

Porto Alegre
Agosto/2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO
AMBIENTE

**EFEITO DA COLONIZAÇÃO COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
(*Rhizophagus clarus*) NA PRODUTIVIDADE DE PLANTAS DE TABACO
(*Nicotiana tabacum* L.) SUBMETIDAS A DIFERENTES DOSES DE ADUBAÇÃO
NITROGENADA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Área de concentração: Microbiologia
Agrícola

Orientadora: Prof^a. Dr. Sueli Teresinha Van Der Sand
Co-orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade Filho

Porto Alegre, Rio Grande do Sul - Brasil
Agosto/2018

CIP - Catalogação na Publicação

Endres, Gisele Fabiani

Efeito da colonização com fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus clarus*) na produtividade de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) submetidas a diferentes doses de adubação nitrogenada / Gisele Fabiani Endres. -- 2018.

61 f.

Orientador: Sueli Teresinha Van Der Sand.

Coorientador: Galdino Andrade Filho.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Fungo micorrízico arbuscular. 2. Absorção de nutrientes. I. Sand, Sueli Teresinha Van Der, orient. II. Filho, Galdino Andrade, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

“O analfabeto do século XXI não será aquele que não consegue ler e escrever, mas aquele que não consegue aprender, desaprender e reaprender”.

Alvin Toffler

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus e meus anjos de guarda por sempre me direcionarem para o caminho certo, me mostrando que eu era capaz de chegar bem mais longe.

A minha orientadora Prof.^a Dr. Sueli T. Van Der Sand por toda orientação, confiança e atenção depositada. Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Galdino Andrade Filho, por todo apoio, orientação e direcionamento na condução dos experimentos.

Aos meus pais, que não tiveram a oportunidade de estudar, mas que sempre se esforçaram para que fosse diferente com os filhos, gratidão a vocês e a minha irmã por sempre me apoiarem e motivarem na vida acadêmica.

Ao meu marido e filha pelo apoio e amor incondicional, por compreender a minha ausência para tornar isso possível, sem o apoio de vocês eu não teria chegado aqui.

Aos colegas da Souza Cruz pela oportunidade de realizar o trabalho e por todo apoio e dedicação na condução dos experimentos, principalmente aos colegas Luiz Chmil e Jacson Schneider que acompanharam os experimentos de campo.

A todos que de alguma forma contribuíram no desenvolvimento do projeto.

**EFEITO DA COLONIZAÇÃO COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES
(*Rhizophagus clarus*) NA PRODUTIVIDADE DE PLANTAS DE TABACO
(*Nicotiana tabacum* L.) SUBMETIDAS A DIFERENTES DOSES DE ADUBAÇÃO
NITROGENADA**

Autor: Gisele Fabiani Endres

Orientadora: Prof^a. Dr. Sueli Teresinha Van Der Sand

Co-orientador: Prof. Dr. Galdino Andrade Filho

RESUMO

A adição de fertilizantes químicos é uma prática comum na produção agrícola para o aumento da produtividade. A associação de plantas com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) representa uma alternativa para complementar a demanda nutricional das plantas e reduzir os custos de produção pelo uso de fertilizantes químicos comerciais, porém seu uso é muitas vezes limitado pela dificuldade de sua produção em larga escala. O objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade do inóculo de *Rhizophagus clarus* produzido *in vitro*, na absorção de nutrientes e produtividade de plantas de tabaco, quando comparada a fertilização química convencional. O experimento foi conduzido em lavoura em duas áreas, totalizando oito tratamentos e quatro repetições, sendo cada uma das 32 parcelas composta de 54 plantas. As áreas foram delineadas em blocos ao acaso, utilizando dois fatores: adubação e inoculação de *R. clarus*. O fator 1 correspondeu a diferentes concentrações de nitrogênio (N) na adubação de cobertura, nas dosagens de 0, 140, 200 e 260 kg/ha. O fator 2 estava relacionado a inoculação ou não do fungo micorrízico *R. clarus* nas mudas de tabaco. Os parâmetros avaliados foram: desenvolvimento das mudas, percentual de colonização das raízes por FMA e o efeito na absorção de nutrientes, produtividade e qualidade. A associação com *R. clarus* proporcionou maior desenvolvimento das plantas na fase de produção de mudas. Na lavoura foram observados resultados significativos na absorção de fósforo e não foram observados resultados significativos na produtividade e absorção de nitrogênio.

¹Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (61 p.) Agosto, 2018.

**ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI (*Rhizophagus clarus*) COLONIZATION
EFFECT ON TOBACCO PLANTS (*Nicotiana tabacum* L.) PRODUCTIVITY
SUBMITTED TO DIFFERENT NITROGEN FERTILIZER DOSES ¹**

Author: Gisele Endres

Advisor: Prof. Dr. Sueli Teresinha Van Der Sand

Co-Advisor: Prof. Dr. Galdino Andrade Filho

ABSTRACT

The addition of chemical fertilizers is a common practice in the agriculture production to enhance productivity. An association of plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) represents an alternative to supplement the nutritional production of plants and reduce the costs of production by the use of commercial chemical fertilizers, however its use is frequently limited by its large-scale production difficulty. The aim of this project was to determine the effectiveness of *Rhizophagus clarus* inoculation, which was produced *in vitro*, in tobacco plants with the purpose to evaluate the nutrients absorption effects and productivity in comparison with conventional chemical fertilization. The experiments were conducted in two distinct field areas, totalizing eight treatments with four repetitions. Each one of the 32 parcels were composed of 54 plants. The experimental area was design in randomized blocks with two factors: fertilization and *R. clarus* inoculation. Factor 1 corresponded to different nitrogen concentrations (N), in fertilizer coverage, in the dosages of 0, 140, 200 and 260 kg/ha. Factor 2 was related to the inoculation or not of mycorrhizal fungi *R. clarus* in tobacco seedlings. The parameters evaluated were: development of seedlings, percentage of colonization by AMF on root, the effect of inoculation on nutrients absorption, productivity and tobacco quality. The association with *R. clarus* provided greater development of the plants in the seedlings production stage. In the field of cultivation significant results were observed in the absorption of phosphorus, and no significant results were observed in productivity and nitrogen absorption.

¹Master of Science Thesis in Agricultural and Environmental Microbiology – Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (61 p.) August, 2018.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	3
2.1	Objetivo Geral	3
2.2	Objetivos Específicos.....	3
3.	REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1	A cultura do tabaco	4
3.2	Fungos Micorrízicos Arbusculares	5
3.2.1	Origem e classificação.....	5
3.2.2	Estabelecimento da simbiose	6
3.2.3	Fatores que podem influenciar a simbiose.	8
3.2.4	Benefícios da Simbiose para as plantas	9
3.3	Micorrizas arbusculares na aquisição de nitrogênio e fósforo pelas plantas.....	10
3.4	Consumo de Fertilizantes	12
3.5	Aplicação de fungos micorrízicos arbusculares nas culturas	12
3.6	<i>Rhizophagus clarus</i> na produção <i>in vitro</i>	13
4.	MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1	Área experimental.....	15
4.2	Produção de mudas de tabaco e inoculação de <i>R. clarus</i>	16
4.2.1	Produção de mudas para área 1 e 2.....	16
4.2.2	Produção de mudas para os experimentos de casa de vegetação....	17
4.3	Controle fitossanitário	18
4.4	Delineamento Experimental - Lavoura	19
4.5	Tratos culturais na lavoura	20
4.6	Coleta e preparo das amostras para as análises	20
4.6.1	Análise de micorrização	21
4.6.2	Análise de nitrogênio total.....	22
4.6.3	Análise de fósforo das folhas	22
4.6.4	Análise de massa seca	23
4.6.5	Análise do Índice de Qualidade da Safra.....	23
4.7	Análise Estatística.....	23
5.	RESULTADOS	24

5.1	Avaliação do desenvolvimento das mudas colonizadas por <i>R. clarus</i>	24
5.2	Avaliação do efeito dos agroquímicos na colonização por <i>R. clarus</i> .	25
5.3	Análise da colonização micorrízica das mudas no sistema floating ..	26
5.4	Análise da colonização micorrízica das plantas cultivadas em lavoura.....	27
5.5	Análise de massa seca total	28
5.6	Análise de nitrogênio total das folhas	29
5.7	Análise de fósforo das folhas.....	31
5.8	Índice de Qualidade da Safra	32
6.	DISCUSSÃO	34
7.	CONCLUSÃO	39
8.	REFERÊNCIAS	40
9.	ANEXOS	45

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Renda Per Capita: Média Brasileira versus Média Produtores de Tabaco. Fonte (Sinditabaco, 2016).....	3
Tabela 2. Latitude, longitude e altitude das áreas experimentais.....	14
Tabela 3. Análise físico química do solo na área 1 e 2.....	15
Tabela 4. Agroquímicos utilizados na área 1 e 2, em produção de mudas, pré-plantio e lavoura conforme recomendação de bula do fabricante.....	17
Tabela 5. Descrição dos tratamentos onde o fator 1 corresponde as doses de adubação Nitrogenada (cobertura) de 0, 140, 200 e 260 Kg/ha e o fator 2 corresponde a inoculação ou não do FMA <i>R. clarus</i>	18
Tabela 6. Resultados de massa seca das mudas (média de 6 repetições compostas por três mudas cada).....	23
Tabela 7. Resultado da média do percentual de colonização das raízes de 5 mudas de tabaco de quatro bandejas inoculadas com <i>Rhizophagus clarus</i> na área 1 e 2.....	25
Tabela 8. Resultado da média de quatro repetições da colonização micorrízica da raiz aos 45 dias e 90 dias após o transplante do tabaco inoculado e não inoculado com <i>R. clarus</i> na área 1, cultivado com diferentes doses de nitrogênio.....	26
Tabela 9. Resultado da média de quatro repetições da colonização micorrízica da raiz aos 45 dias e 90 dias após o transplante do tabaco inoculado e não inoculado com <i>R. clarus</i> na área 2, cultivado com diferentes doses de nitrogênio.....	26
Tabela 10. Resultado da média de quatro repetições da massa seca total - folhas e caule (g) na área 1, das plantas de tabaco adubadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com <i>R. clarus</i>	27
Tabela 11. Resultado da média de quatro repetições da massa seca total - folhas e caule (g) na área 2, das plantas de tabaco adubadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com <i>R. clarus</i>	28
Tabela 12. Resultado da média de quatro repetições da concentração de nitrogênio total nas folhas de tabaco (g/Kg) cultivado com diferentes doses	29

de nitrogênio na área 1 e inoculados ou não com <i>R. clarus</i>	
Tabela 13. Resultado da média de quatro repetições do nitrogênio total nas folhas (g/Kg) cultivado com diferentes doses de nitrogênio na área 2 e inoculados ou não com <i>R. clarus</i>	29
Tabela 14. Resultado da média de quatro repetições da concentração de fósforo das folhas (g/Kg) na área 1, em plantas de tabaco cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com <i>R. clarus</i>	30
Tabela 15. Resultado da média de quatro repetições da concentração de fósforo das folhas (g/Kg) na área 2, em plantas de tabaco cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com <i>R. clarus</i>	31
Tabela 16. Resultado da média de quatro repetições do IQS das plantas de tabaco na área 1, cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com <i>R. clarus</i>	32
Tabela 17. Resultado da média de quatro repetições do IQS das plantas de tabaco na área 2, cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com <i>R. clarus</i>	32

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Classificação atual dos FMA conforme informações do INVAM (acesso em 27/05/2018).....	5
Figura 2. Eventos envolvidos na formação e funcionamento da simbiose Fonte (Moreira and Siqueira, 2006).....	6
Figura 3. Ciclo Simbiótico. Fonte (Moreira and Siqueira, 2006).....	7
Figura 4. Canteiros com sistema Floating, visão externa e interna do canteiro com mudas de tabaco.....	16
Figura 5. Na parte superior o croqui da repetição 1 para exemplificar a disposição dos tratamentos (blocos ao acaso) com 54 plantas cada. Na parte inferior a foto retirada em campo de uma parcela para exemplificar a disposição das seis linhas de nove plantas.....	19
Figura 6. Fotos ao final de 60 dias da produção de mudas em casa de vegetação. A. Foto das mudas do controle sem inoculação. B. Foto das mudas inoculadas com <i>R. clarus</i>	24
Figura 7. Resultado do percentual de colonização por <i>R. clarus</i> na fase de produção de mudas submetidas a tratamentos com agroquímicos.....	25
Figura 8. Resultado do percentual de colonização por <i>R. clarus</i> 60 dias após transplante em vaso em plantas submetidas a tratamentos com agroquímicos.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Afubra	Associação dos Fumicultores do Brasil
Al	Alumínio
BY	Tabaco Burley
Ca	Cálcio
cm	Centímetros
CV	Coeficiente de variação
°C	Graus Celcius
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
FMA	Fungos Micorrízicos Arbusculares
Fe	Ferro
h	Horas
H ₂ O	Água
INVAM	International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi
IQS	Índice de Qualidade da Safra
K	Potássio
Kg	Quilogramas
Kg/ha	Quilogramas por hectare
Mg	Magnésio
mm	Milímetros
M.O	Matéria Orgânica
N	Nitrogênio
nm	Nanômetros
NPK	Nitrogênio Fósforo e Potássio
P	Fósforo
pH	Potencial Hidrogênionico
ppm	Partes por milhão
RNA	Ácido Ribonucléico
Sinditabaco	Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco
%	Percentual

1. INTRODUÇÃO

O tabaco é uma das culturas mais rentáveis para o pequeno agricultor (Viana et al., 2012), sendo que a indústria mundial do tabaco impacta economicamente mais de 200 países, movimentando cerca de R\$ 2,5 trilhões por ano (Souza Cruz A, 2017). Em 2016 o Rio Grande do Sul foi o maior produtor e exportador de tabaco do Brasil, onde o tabaco representou 10% do total das exportações do ano, sendo o 2º produto mais exportado, atrás somente da soja (Sinditabaco, 2017). Na área de pesquisa de tabaco existe uma preocupação com a sustentabilidade do negócio, buscando práticas alternativas a adubação química convencional, que mantenham a produtividade e qualidade do tabaco na lavoura.

O uso de fertilizantes químicos ainda é uma prática global utilizada para aumentar a produtividade das mais diferentes culturas (Cely, 2014). No solo os nutrientes podem estar imobilizados não estando disponíveis para absorção pelas plantas e também podem ser perdidos por lixiviação (Moreira and Siqueira, 2006). Os nutrientes são absorvidos pelas folhas e pela raiz sendo que a maioria das espécies também pode adquirir nutrientes formando associações com fungos micorrízicos arbusculares (Smith e Smith, 2011).

Os FMA podem ajudar as plantas a adquirir nutrientes, incluindo fósforo, zinco, fontes de nitrogênio, cobre e potássio (Halder et al., 2015), as quantidades variam entre os estudos e sistemas de cultivo, também podem trazer vantagem na fase de produção de mudas de diferentes espécies, onde as plantas inoculadas apresentam melhor desenvolvimento do que as plantas não inoculadas com FMA (Hernández et al., 2014; Rojas et al., 2000). Os benefícios observados por plantas que realizam essa simbiose não está somente relacionada à produtividade e absorção de nutrientes, também foi observado por diversos autores maior tolerância à salinidade, metais pesados, déficit hídrico e maior resistência a doenças (Siqueira et al., 2010; Langeroodi et al., 2017; Mustafa et al., 2016).

Os fungos micorrízicos arbusculares são biotróficos obrigatórios o que dificulta a sua produção em grande escala para comercialização. O uso de inoculante a base de *Rhizophagus clarus*, produzido *in vitro*, já foi realizado em culturas de algodão e soja, demonstrando o potencial desta espécie para ser usado como inóculo, em larga escala, viabilizando a sua utilização na agricultura

(Cely et al., 2016).

Os FMA são encontrados na maioria dos ecossistemas terrestres, podendo ser integrados nas práticas culturais de produção de tabaco, para alcançar sistemas agrícolas mais sustentáveis, diminuindo o custo de produção, pelo aproveitamento mais eficiente da fertilização utilizada. Nesse cenário fica evidente a importância dos FM como alternativa para produção de mudas mais resistentes e desenvolvidas, com maior absorção de nutrientes e produtividade na lavoura.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo foi avaliar a efetividade do inóculo de *Rhizophagus clarus* produzido *in vitro*, na absorção de nutrientes e produtividade de plantas de tabaco, quando comparada a fertilização química convencional.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Verificar se a colonização com *R. clarus* tem alguma vantagem no desenvolvimento das plantas na fase de produção de mudas.
- 2.2.2 Avaliar se os agroquímicos utilizados na cultura do tabaco tem algum efeito sob a colonização micorrízica com *R. clarus*.
- 2.2.3 Avaliar se as diferentes bandejas utilizadas na fase de produção de mudas de tabaco influenciam no percentual de colonização micorrízica das raízes.
- 2.2.4 Avaliar se o fator adubação influencia no percentual de colonização micorrízica das raízes de tabaco após o transplante.
- 2.2.5 Verificar se a colonização com *R. clarus*, na fase de produção de mudas, influencia a qualidade do tabaco.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A cultura do tabaco

O tabaco (*Nicotiana tabacum L.*) pertence à família das solanáceas, sendo cultivado em diversos países. Acredita-se que o tabaco seja uma planta originária dos Andes Bolivianos onde já era utilizado por tribos indígenas. Seu uso está presente na história da sociedade desde o século XV, sendo consumido de diferentes formas (Viana, 2010; Souza Cruz B, 2017).

Atualmente, o tabaco é uma das culturas mais rentáveis para o pequeno agricultor (Viana et al., 2012). A rentabilidade da cultura é uma das motivações para o produtor de tabaco não optar por outra cultura, segundo estudo do perfil socioeconômico do produtor de tabaco da região Sul do Brasil (Sinditabaco, 2016).

A indústria mundial do tabaco impacta economicamente mais de 200 países, movimentando cerca de R\$ 2,5 trilhões por ano (Souza Cruz A, 2017). Segundo a pesquisa do perfil socioeconômico do produtor de Tabaco da Região Sul do Brasil (Sinditabaco, 2016) a renda per capita mensal média na população de produtores de tabaco da Região Sul é de R\$ 1.926,73, enquanto a renda per capita no Brasil é de R\$ 1.113,00 (Tabela 1), o que evidência a importância econômica e social do tabaco no meio rural.

Tabela 1: Renda Per Capita: Média Brasileira versus Média de Produtores de Tabaco. Fonte (Sinditabaco, 2016).

Regiões	Produtores de Tabaco (R\$)	Geral (R\$)
Paraná	2.037,23	1.241,00
Santa Catarina	2.266,19	1.368,00
Rio Grande do Sul	1.681,71	1.435,00
Geral Região Sul	1.926,73	-
Brasil	-	1.113,00

A importância econômica do tabaco no Brasil também se deve a sua importância em nível internacional. De acordo com a Associação dos Fumicultores do Brasil (Afubra, 2014) desde 1993 o Brasil ocupa a primeira posição do ranking mundial de exportação de tabaco. Em 2016 o Rio Grande do

Sul foi o maior produtor e exportador de tabaco do Brasil embarcando 383 mil toneladas, gerando divisas de US\$ 1,65 bilhão. O tabaco representou 10% do total das exportações do ano, sendo o 2º produto mais exportado, atrás somente da soja (Sinditabaco, 2017).

O tabaco gera renda para cerca de 615 mil pessoas, é cultivado em 321.520 mil hectares do território nacional, onde o sul do país é responsável por 98% dessa produção tendo o principal complexo agroindustrial de tabaco do Brasil com 619 municípios (Souza Cruz C, 2017). Os principais tipos de tabaco cultivados na região Sul são o tipo galpão e o tipo estufa (Silveira, 2015). O tipo galpão é caracterizado pela cura das folhas em galpões com ventilação natural, tendo como o principal grupo varietal o tabaco Burley. Já no tipo estufa a cura ocorre em estufas com ventilação forçada, temperatura e umidade controlada, sendo o principal grupo varietal o Virgínia (Viana, 2010).

3.2 Fungos Micorrízicos Arbusculares

3.2.1 Origem e classificação

O nome micorriza deriva do Grego "mycos" e "rhiza" que significa "fungo-raiz". Fungos micorrízicos arbusculares são provavelmente a simbiose vegetal mais antiga e mais difundida na Terra, pois existem registros fósseis e evidências filogenéticas de sua existência há mais de 450 milhões de anos (Jung et al., 2012).

As primeiras evidências de ocorrência de associação micorrízica arbuscular foram descritas em 1842 por Nageli e o primeiro isolamento foi realizado entre 1952 e 1957 por Nicholls de uma superfície estéril de raízes micorrízicas de cebola (Ajeesh et al., 2015).

Os FMA pertencem ao Filo Glomeromycota, Classe Glomeromycetes, Ordem Glomales, são biotróficos obrigatórios, formando uma simbiose mutualística com as raízes das plantas (Siqueira et al., 2010). Segundo o INVAM (*International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) a mais recente classificação dos FMA (Figura 1) está baseada em regiões abrangendo genes de RNA ribossômico: 18S (SSU), ITS1-5.8S-ITS2 (ITS) e / ou 28S (LSU).

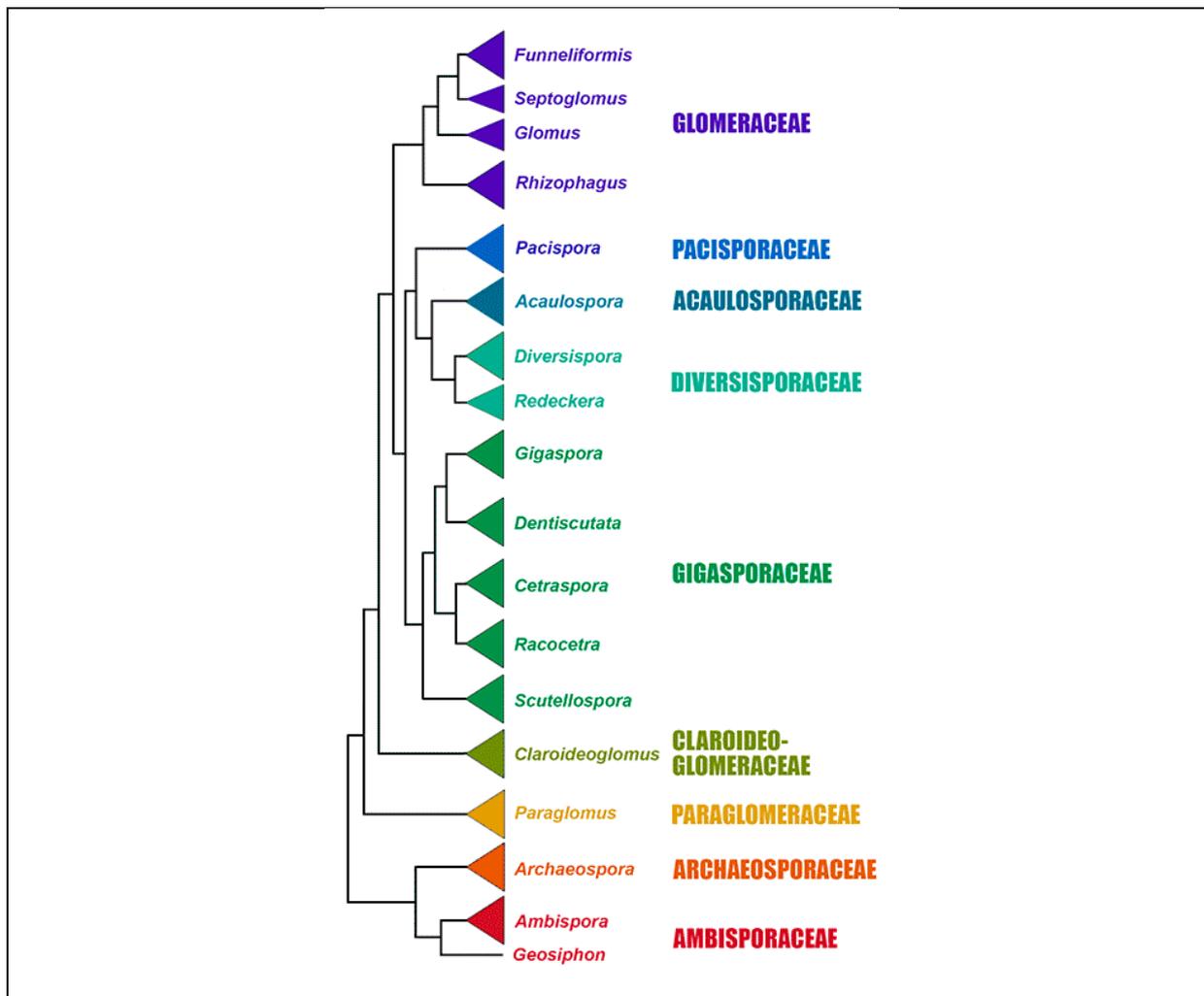


Figura 1: Classificação atual dos FMA conforme informações do INVAM (acesso em 27/05/2018).

3.2.2 Estabelecimento da simbiose

O caráter biotrófico obrigatório dos FMA sempre foi um desafio para o estudo destes fungos e também para entender o estabelecimento dessa simbiose.

No processo de simbiose não são observadas alterações morfológicas macroscópicas nas raízes colonizadas por FMA, mas mudanças no metabolismo de ambos simbioses (Siqueira et al., 2010).

Para que ocorra a simbiose uma perfeita interação morfológica, bioquímica e funcional precisa acontecer (Figura 2). Essa simbiose é obrigatória para sobrevivência do fungo, no entanto para as plantas é facultativa, com alguns casos de micotrofismo, pois existem algumas espécies de plantas que não conseguem crescer sem esses fungos (Moreira and Siqueira, 2006).

A colonização se inicia com o crescimento de uma hifa infectiva, proveniente de três fontes principais de propágulos: um esporo germinado, um segmento de raiz infectado ou de hifas do solo, essa fase é denominada de pré-simbiótica é um processo de comunicação entre as plantas e os FMA (Cely, 2014).

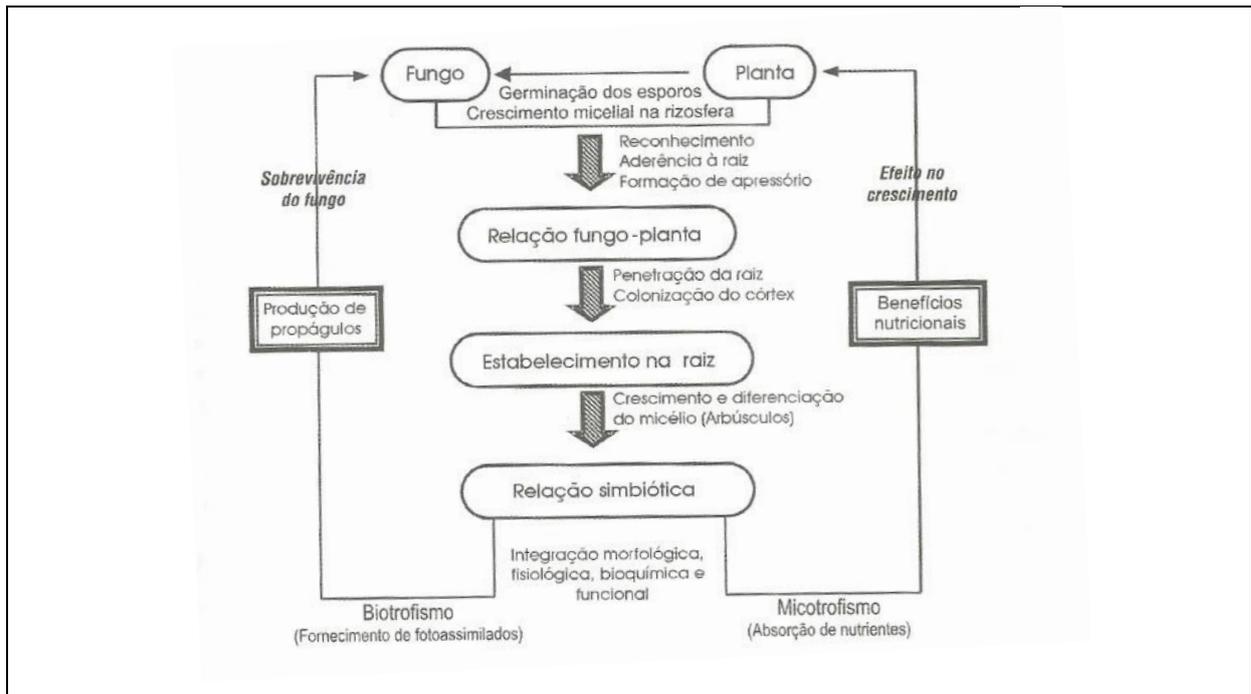


Figura 2: Eventos envolvidos na formação e funcionamento da simbiose. Fonte (Moreira and Siqueira, 2006).

Após o reconhecimento celular inicia-se o processo simbiótico (Figura 3), onde ocorre a diferenciação da hifa em apressório e posterior penetração nas raízes por pressão mecânica e também a degradação enzimática parcial da parede celular por pectinases, celulasas e hemicelulasas produzidas pelo fungo (Moreira and Siqueira, 2006; Siqueira et al., 2010). Depois do processo de penetração nas raízes ocorre a colonização do apoplasto e das células do córtex formando os arbúsculos através da penetração das células corticais pela hifa causando invaginação da plasmalema. As hifas produzidas pelo fungo podem crescer tanto intra quanto intercelularmente (Siqueira et al., 2010; Hoffmann and Lucena, 2006).

Do ponto de vista fisiológico a principal estrutura da simbiose é o arbúsculo, pois é onde ocorre a troca de metabólitos; este tem ciclo de vida curto

(4 a 5 dias) sofrendo degeneração ao final desse período (Hoffmann and Lucena, 2006).

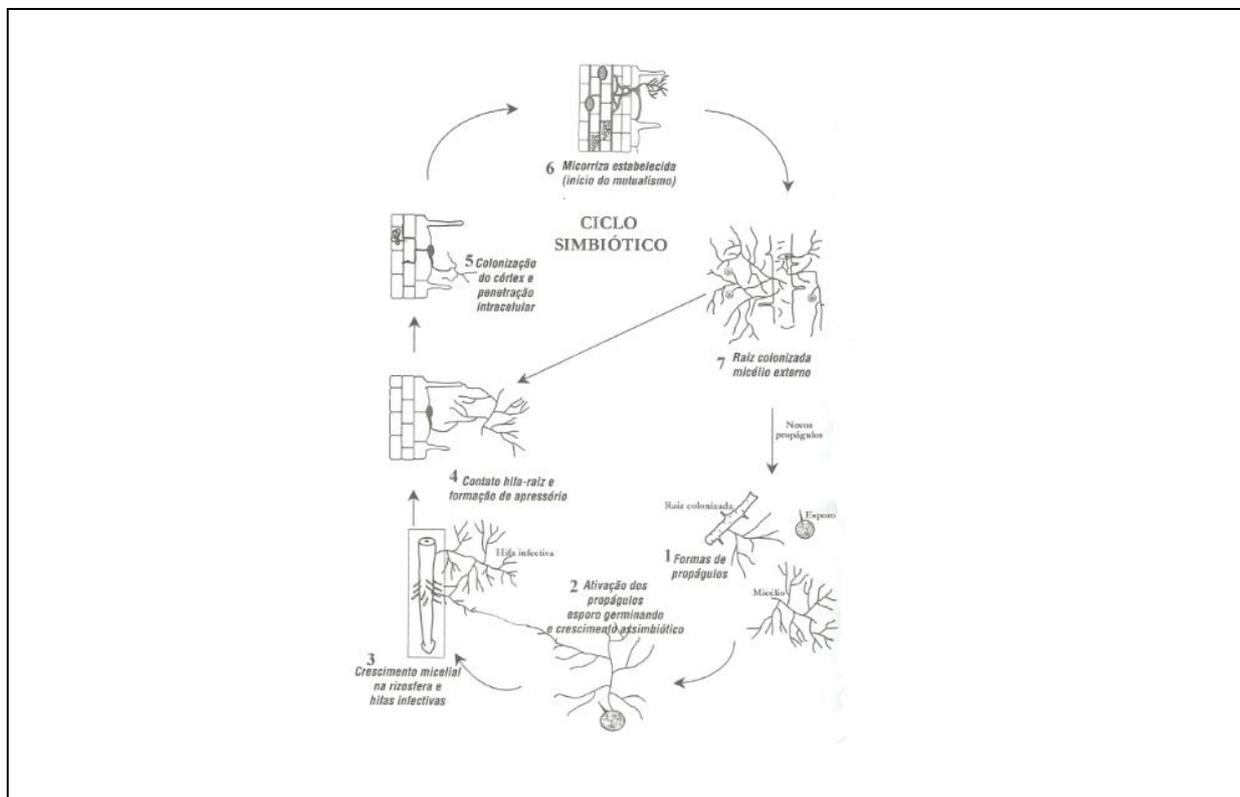


Figura 3: Ciclo Simbiótico. Fonte (Moreira and Siqueira, 2006).

3.2.3 Fatores que podem influenciar a simbiose.

As micorrizas são sistemas biológicos fortemente influenciados pelo ambiente e por inúmeros fatores edáficos que irão influenciar de modo direto ou indireto na formação, funcionamento e ocorrência dessa simbiose (Pereira et al., 2012).

A simbiose com FMA pode ser afetada por fatores bióticos e abióticos, sendo o solo um grande influenciador no estabelecimento dos FMA e a sua sobrevivência é geralmente maior em solos argilosos do que nos arenosos. A radiação solar e o aumento da temperatura geralmente influenciam positivamente a colonização das raízes e a esporulação (Ajeesh et al., 2015).

Segundo Siqueira et al. (2010) nos sistemas orgânicos de produção a diversidade de FMA é maior comparada aos sistemas tradicionais. Em sistemas de monocultivo observa-se uma diminuição no número de espécies de FMA, assim como uma menor colonização radicular, comparado a um sistema de

rotação de culturas.

A planta hospedeira também pode exercer influências na micorrização e na própria rizosfera na população de FMA através da liberação de exsudados radiculares (Ajeesh et al., 2015). Os hormônios vegetais, por exemplo, influenciam a colonização micorrízica. As auxinas são responsáveis pela formação das raízes laterais podendo aumentar os sítios de colonização, já a produção de ácido jasmônico pela planta pode diminuir o percentual de colonização micorrízica (Cely, 2014).

O uso de fertilizantes químicos como fósforo e nitrogênio pode ter um impacto negativo na colonização micorrízica (Ajeesh et al., 2015). Dentre os fatores abióticos mais estudados está o P, que exerce grande influência na colonização por FMA, pois quando o P atinge as concentrações adequadas para a manutenção do crescimento vegetal, a colonização micorrízica pode ser inibida e incompatível em condições de altos níveis desse nutriente no solo (Silva, 2013).

Mustafa et al. (2016) confirmaram que uma diminuição na concentração de fósforo levou a um aumento significativo no percentual de micorrização das raízes. Este fato pode ser explicado por um aumento na permeabilidade da membrana celular, pois reduz a síntese de fosfolípido, deixando a membrana plasmática mais fluida, levando à liberação pelas raízes de metabolitos como os aminoácidos solúveis e açúcares, que são importantes para o crescimento e desenvolvimento inicial dos esporos micorrízicos germinados. O contrário, altas concentrações de fósforo e o acúmulo de fosfatases, forma dímeros com lectinas na raiz, bloqueando a penetração do fungo ou inibindo o seu crescimento (Silva, 2013).

3.2.4 Benefícios da Simbiose para as plantas

Numerosos estudos (Aguilar and Barea, 1996; Jung et al., 2012; Moreira and Siqueira, 2006; Mustafa et al., 2016; Siqueira et al., 2010) mostram que os FMA aumentam a resistência das plantas contra vários patógenos. Uma das primeiras observações estava relacionada a algum tipo de competição por espaço, pois embora fungos patogênicos de raízes e FMA colonizem os mesmos tecidos do hospedeiro, geralmente se desenvolvem em diferentes células corticais da raiz onde o patógeno não penetra nas células contendo arbúsculos (Aguilar

and Barea, 1996). Recentemente Song et al. (2015) demonstraram que a colonização micorrízica melhora a resistência do tomateiro, no início da ferrugem, estimulando a resposta sistêmica da via de sinalização do jasmonato, essencial para resistência a doenças.

Os FMA tem um importante papel na estabilidade e qualidade do solo formando agregados devido à produção de uma glicoproteína, a glomalina, que age como uma cola para as partículas do solo (Ajeesh et al., 2015). A glomalina contém cerca de 60% de carboidratos, possui nitrogênio ligado ao oligossacarídeo, contém Fe, é insolúvel em água e apresenta alta hidrofobicidade (Pereira et al., 2012).

Uma das características mais importantes da micorrização é a melhora da nutrição de água e minerais da planta, sendo que a colonização micorrízica pode levar ao aumento da absorção de fósforo em dez vezes comparado aos pelos radiculares (Mustafa et al., 2016).

Os FMA também podem minimizar as perdas de produção em solos com alta salinidade aumentando a tolerância da planta ao sal. Os mecanismos relacionado com a tolerância à salinidade conferida pelos FMA ainda não foram elucidados em nível molecular (Pereira et al., 2012).

Muitos são os benefícios dessa simbiose, como a maior absorção e utilização de nutrientes do solo, ação de bioncontrole sobre certos patógenos e pragas, aumento da tolerância ao estresse hídrico e salino, amenização de estresse causado por metais pesados (Siqueira et al., 2010). Esses benefícios oferecidos pela associação simbiótica trazem muitas vantagens para sobrevivência das plantas na lavoura comparada a plantas não micorrizadas.

3.3 Micorrizas arbusculares na aquisição de nitrogênio e fósforo pelas plantas

Nos últimos anos, os olhares se voltaram para esses fungos devido ao importante papel que exercem na aquisição de nutrientes pelas plantas, mais especificamente o fósforo (P). Várias são as pesquisas realizadas (Rojas and Siqueira, 2000; Siqueira et al., 2010; Correa e Mantoan, 2017) que comprovam os benefícios dessa associação para a produtividade das plantas e estudos realizados no Brasil confirmam a capacidade de plantas micorrizadas aproveitarem o P de formas não disponíveis as plantas sem micorriza. A absorção desse nutriente é influenciada pelo pH do solo, na faixa de pH entre 4 e 8, sendo

a forma $H_2PO_4^-$, a forma preferencial de absorção desse nutriente pelas plantas. Em plantas de soja inoculadas com *R. clarus* observou-se diferença significativa na absorção de fósforo comparada ao controle sem inoculação e adubação (Cely et al., 2016). A hifa externa do fungo micorrízico arbuscular pode fornecer 80% do fósforo, 25% do nitrogênio, 10% do potássio, 25% do zinco e 60% do cobre (Hoffmann e Lucena, 2006).

As hifas de FMA podem estender-se para além da superfície da raiz em mais de 10 cm, com densidades acima de 10 metros de hifas por grama de solo. Essa extensa rede de absorção, que se estende além das zonas de depleção de nutrientes da rizosfera que se formam em torno das raízes, permite que as micorrizas acessem um maior volume de solo do que as raízes não colonizadas (Drew et al., 2003).

Outra característica importante, pensando na utilização destes fungos na agricultura, é ausência de especificidade hospedeiro onde 95% das espécies vegetais pertencem a famílias que são micorrizadas (Siqueira et al., 2010) o que abre um grande leque de oportunidades para utilização dos FMA na aquisição de nutrientes pelas plantas.

No Brasil a produtividade de diversas culturas pode ser afetada pela deficiência de P no solo, pois suas concentrações são geralmente muito baixas, em 90% das análises químicas de solo, o fósforo apresenta teores menores que 10 ppm e mesmo estando presente no solo pode não estar disponível para cultura (Corrêa e Mantoan, 2017). Segundo Cely (2014) uma grande extensão dos solos brasileiros é do tipo latossolo, onde se observa características de pH ácido e alto teor de óxidos e hidróxidos de Fe e Al. Essas características tornam o fósforo indisponível para absorção pelas plantas, sendo necessária a adubação química para aumentar o P disponível às culturas. Sendo o fósforo um elemento de baixo aproveitamento pelas plantas, o conhecimento das habilidades das plantas em absorver o nutriente do solo e utilizá-lo em seu crescimento é uma alternativa que pode ser importante para melhorar a eficiência da adubação fosfatada, e a associação com FMA pode ser um mecanismo para aumentar a absorção deste nutriente (SENA et al., 2014).

Na agricultura a disponibilidade de N e P pode ser um fator limitante para a produtividade da lavoura e os FMA apresentam potencial como insumo biológico. Segundo Siqueira et al. (2002) a inoculação de milho e soja com

isolados eficientes pode reduzir em 34% e 56% respectivamente o requerimento de adubação química fosfatada.

3.4 Consumo de Fertilizantes

Segundo Cely et al. (2016) o Brasil produz somente 25% dos fertilizantes que consome sendo o restante importado para suprir as demandas. O aumento do consumo de fertilizantes no Brasil mostra uma evolução média anual de 6,5% a partir de 1970 até 2000 (ANDA, 2003). No ano de 2016 a 2017 o aumento de importações de fertilizantes foi de 7,5%, segundo relatório estatístico da Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA, 2017).

Devido à expansão demográfica atual, existe a necessidade de maximizar os recursos do planeta, sendo o solo um dos mais importantes para a manutenção da vida e equilíbrio da biosfera. O grande desafio da ciência atual é buscar alternativas aos fertilizantes químicos, para complementar a demanda nutricional das plantas e alcançar um padrão de agricultura mais sustentável e menos dependente de insumos (Souza et al., 2005).

A simbiose com FMA pode ser uma alternativa para melhorar a absorção de nutrientes do solo. Hernández et al. (2014) na avaliação de diferentes doses de adubo mineral na produção de mudas de tabaco em solo alítico, com baixa atividade argilosa, conseguiram obter igual produtividade e qualidade ao diminuir a adubação em 25% com a associação com FMA.

3.5 Aplicação de fungos micorrízicos arbusculares nas culturas

Segundo Siqueira et al. (2010) nos últimos 30 anos no Brasil, os FMA foram aplicados em diferentes culturas, demonstrando diversos benefícios para as plantas inoculadas. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2018), dentre as principais culturas de grãos do país estão: algodão, amendoim, arroz, aveia, canola, centeio, cevada, feijão, girassol, mamona, milho, soja, sorgo, trigo e triticale. Algumas culturas são dependentes da micorrização para absorção de nutrientes do solo. Segundo Cardoso et al. (2004) a cultura do milho demonstrou-se dependente da micorriza para absorção de fósforo. Plantas de milho inoculadas com *Glomus clarum* tiveram aumento da biomassa da parte aérea e raízes (Miyachi et al., 2008). Na cultura da soja FMA contribuíram em 53% no seu crescimento (Miranda et al., 2005), o mesmo foi observado por

Stümer (2004) que observou aumento de biomassa foliar e conteúdo foliar de fósforo em plantas de soja micorrizadas. Mudanças de café que foram pré-colonizadas com FMA antes do transplante apresentaram melhor desenvolvimento e rendimento de grãos em solo de baixa fertilidade quando comparado com plantas que não foram pré-colonizadas (Andreade et al., 2009).

Para a cultura de tabaco existe um baixo número de pesquisas publicado, sendo poucos os estudos sobre a inoculação de FMA nessa cultura, sendo a maioria dos trabalhos realizados fora do Brasil. Rheinheimer et al. (1997) demonstrou que a inoculação de mudas com FMA foi benéfica para produção de folhas de tabaco quando em pH 4,7. Em mudas de tabaco a utilização de FMA, com redução de 25% da adubação, demonstrou resultados com igual rendimento e qualidade que a utilização somente de 100% da fertilização mineral (Hernández et al., 2014). Recentemente Langeroodi et al. (2017) demonstraram que plantas de tabaco inoculadas com FMA mantiveram níveis mais elevados de hormônios de crescimento e também atenuaram o impacto negativo do cloreto de sódio do solo.

3.6 *Rhizophagus clarus* na produção *in vitro*

Os solos naturalmente contêm comunidades de FMA associados a raízes de plantas, porém o fato de levar uma planta, que já foi micorrizada na fase de produção de mudas, traz vantagens e maior sobrevivência no momento do transplante. No Brasil ainda não existe inoculante comercial registrado para utilização na agricultura sendo a principal dificuldade para a sua produção comercial o fato de que os FMA são biotróficos obrigatórios (Souza et al., 2005).

Apesar do grande número de pesquisas sobre FMA no Brasil, e seus efeitos benéficos para as plantas, a maioria dos estudos ainda utiliza a multiplicação de FMA em vasos sendo utilizado como plantas hospedeiras principalmente as gramíneas (Siqueira et al., 2010).

Para utilização dos FMA em grande escala na agricultura, seria necessário um método de produção mais rápido. Atualmente pesquisas desenvolvidas em universidades e centros de pesquisa e inovação têm voltado seus esforços para obtenção de culturas axênicas, onde o cultivo de FMA é realizado *in vitro* em meio sintético com raízes de cenoura Ri T-DNA

transformadas em órgãos hospedeiros. Este método, padronizado em 1988 por Becard e Fortin, demonstra um grande potencial para utilização em larga escala, pois traz várias vantagens sobre os métodos convencionais de cultivo em vaso como: a produção de um inóculo puro com alta quantidade de massa fúngica e menor tempo de produção (Cely et al., 2014).

Em plantas de algodão e soja a aplicação do inóculo de *R. clarus*, produzido *in vitro* ajudou as plantas na absorção de fósforo a partir de fertilizantes, demonstrando um potencial para uso em combinação com a fertilização convencional (Cely et al., 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área experimental

Os experimentos de casa de vegetação, foram conduzidos nas estufas da Souza Cruz, localizada em Cachoeirinha estado do RS, onde a temperatura foi mantida em 27 °C durante todo experimento.

Os experimentos de lavoura foram conduzidos de abril de 2016 a fevereiro de 2017, em dois locais: Iraceminha estado de SC (área 1) e Cruz Machado estado do PR (área 2). Na Tabela 2 segue os dados geográficos das duas áreas estudadas.

Tabela 2: Latitude, longitude e altitude das áreas experimentais.

Área	Latitude	Longitude	Altitude
1	26°48'35.88"	53°22'09.20"	390
2	26°02.0'24.0"	51°18'30.5"	865

A pluviometria e temperatura das áreas foram acompanhadas pelo site do SOMAR Meteorologia, sendo avaliado de setembro de 2016 a janeiro de 2017 que correspondia ao período de plantio até a colheita do tabaco. O total de chuva acumulado no período foi de 922 mm na área 1 e de 583 mm na área 2. A temperatura foi avaliada no mesmo período sendo a mínima 12°C e 8°C e a máxima 29°C e 28°C, área 1 e 2 respectivamente.

Para avaliar a qualidade físico-química do solo foi coletado em cada área uma amostra, composta de 15 sub-amostras, da área experimental, com auxílio de um trado, a uma profundidade de 20 cm.

Na Tabela 3, podemos observar os resultados da análise de solo das duas áreas experimentais. Com base na granulometria utilizando o triângulo textural do solo segundo Lemos & Santos (1996), foram classificados como área 1 argila arenosa e área 2 argila. De acordo com o sistema Brasileiro de classificação de solos (2006), a área 1 foi classificada como Cambissolo Flúvico Alumínico e a área 2 Nitossolo Vermelho Eutrófico.

Com base na interpretação das análises de solo para cultivo de tabaco (Anexo 1) as áreas apresentam um solo com acidez fraca. A área 1 apresentou um baixo percentual de matéria orgânica contra um percentual médio da área 2 e

ambas apresentam alta concentração de cálcio, magnésio além da concentração de potássio muito alta. Com relação à quantidade de fósforo apresentaram uma quantidade média.

Tabela 3: Análise físico química do solo na área 1 e 2.

Área	pH H ₂ O	Índice SMP	M.O. %	cmol _c /dm ³				P (ppm)	Granulometria			Classe Textural
				Ca	Mg	Al	K		Areia	Silte	Argila	
1	6,0	6,0	2,0	13,7	5,5	0,0	0,36	20,18	50	13,8	36,2	Argila arenosa
2	6,0	6,2	3,1	8,9	3,5	0,0	0,63	10,6	29	23	48	Argila

M.O (Matéria orgânica), Ca (Cálcio), Mg (Magnésio), Al (Alumínio), K (Potássio) e P (Fósforo)

4.2 Produção de mudas de tabaco e inoculação de *R. clarus*

4.2.1 Produção de mudas para área 1 e 2

A produção de mudas ocorreu nos meses de julho a setembro de 2016, sendo utilizadas sementes fornecidas pela Souza Cruz do cultivar BAT2101 de tabaco tipo Burley. O inóculo de *R. clarus*, foi cedido pelo Laboratório de Ecologia Microbiana da Universidade Estadual de Londrina, sendo produzido *in vitro* (em meio sintético com raízes de cenoura Ri T-DNA transformadas em órgãos hospedeiros), conforme descrito na patente INPI BR 10 2014 017389 7 15/07/2014 (Andrade et al., 2014). Quinhentos mililitros de inóculo, contendo hifas, micélio externo, raízes colonizadas e esporos foi acrescentado a um saco de 25 kg de substrato a base de casca de pinus (MECPLANT) e homogeneizado em uma betoneira resultando em 200 esporos por grama de substrato (cálculo realizado com base em mais de 100 testes realizados com inóculos de quinhentos mililitros pelo Laboratório de Ecologia Microbiana da Universidade Estadual de Londrina).

Na área 1 foram utilizadas bandejas plásticas de polipropileno de 242 células (volume de cada célula 14cm³) e na área 2 foram utilizadas bandejas de isopor de 200 células (volume de cada célula 18cm³).

As bandejas foram preenchidas com substrato adicionado ou não do inóculo de *R. clarus* e a semeadura foi realizada com uma semente por célula. As bandejas foram colocadas dentro de um canteiro com sistema floating (camada de no máximo 2cm de água) por onde permaneceram por 60 dias até o

transplante (Figura 4). As bandejas com substrato inoculado com *R. clarus* foram colocadas em canteiros separados.



Figura 4: Canteiros com sistema Floating, visão externa e interna do canteiro com mudas de tabaco.

A adubação foi realizada na água do canteiro adicionando-se 1g do adubo NPK (20-10-20) por litro de água, sendo a primeira adubação na germinação das sementes e a segunda adubação 20 dias após. Durante a fase de produção de mudas houve a necessidade da realização de quatro podas, cortando-se o ápice das folhas, pratica esta que evita o estiolamento das mudas.

4.2.2 Produção de mudas para os experimentos de casa de vegetação

Paralelamente ao experimento em lavoura, foi conduzido um experimento em casa de vegetação para avaliar se as mudas micorrizadas tem alguma vantagem no desenvolvimento comparado às mudas não micorrizadas.

A produção de mudas seguiu a mesma metodologia descrita no item 4.2.1, com a exceção de serem utilizadas bandejas plásticas de 25 células.

O experimento foi composto de dois tratamentos (sem inoculação e com inoculação de *R. clarus*) e seis repetições, o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, onde cada unidade experimental foi constituída de uma bandeja de 25 células.

Ao final da fase de produção de mudas (60 dias) foi arrancado aleatoriamente três mudas de cada uma das seis bandejas, que foram lavadas cuidadosamente em água corrente para retirar o excesso de substrato e após foi realizado a medição da altura das mudas em cm, utilizando uma prancha, sendo feito o registro em foto. Após foi separado a raiz da parte aérea e determinado a massa seca, seguindo as recomendações do item 4.6.4.

4.3 Controle fitossanitário

O controle fitossanitário foi realizado com os produtos descritos na tabela 4, conforme recomendação de bula do fabricante.

Tabela 4: Agroquímicos utilizados na área 1 e 2, em produção de mudas, pré-plantio e lavoura conforme recomendação de bula do fabricante.

Período	Produto	Alvo/Objetivo
Produção de mudas	Rovral	Controle de fungo
	Ridomil Gold MZ	Controle de <i>Pythium sp.</i>
	Evidence 700 WG	Controle de pragas
	Cobre Atar BR	Controle de <i>Alternaria sp.</i>
	Azamax	Controle de <i>Bradysia sp.</i>
Pré plantio	Boral 500SC	Controle de ervas daninhas área total
	Gamit 360 CS	Controle de ervas daninhas área total
Lavoura	Confidor Supra	Controle de pragas
	Nomolt 150	Controle da Traça da batata
	Actara 250 WG	Controle de pragas tardias

Antes de levar o experimento a campo foi avaliado o efeito dos agroquímicos utilizados no cultivo do tabaco, na colonização micorrízica por *R. clarus*, na fase de produção de mudas e também em vaso (simulando o período pré-plantio e lavoura) em casa de vegetação.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco repetições por tratamento. Na fase de produção de mudas cada unidade experimental foi constituída de uma bandeja de 25 células e na fase que simulava pré-plantio/lavoura constituída de um vaso de 1,5 litros com substrato Mecplant.

Na fase de produção de mudas foi considerada como tratamento a condição das mudas tratadas e não tratadas com os agroquímicos, resultando em seis tratamentos: controle (sem nenhuma aplicação) e as aplicações com Rovral, Ridomil Gold MZ, Evidence 700WG, Cobre Atar BR e Azamax. Após 60 dias foi avaliada a colonização micorrízica, conforme item 4.6.1.

Na fase pré-plantio/lavoura foi considerada como tratamento a condição das plantas tratadas e não tratadas com os agroquímicos, resultando em seis tratamentos: controle (sem nenhuma aplicação) e as aplicações com Boral 500SC, Gamit 360CS, Confidor Supra, Nomolt 150 e Actara 250WG. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por dois meses após transplante

para os vasos e após esse período foi avaliada a colonização micorrízica, conforme item 4.6.1.

4.4 Delineamento Experimental - Lavoura

As áreas 1 e 2, foram delineadas em blocos ao acaso, utilizando dois fatores: adubação de cobertura e inoculação de *R. clarus*. O fator 1 correspondia a diferentes concentrações de nitrogênio (N), na adubação de cobertura, nas dosagens de 0, 140, 200 e 260 kg/ha. O fator 2, estava relacionado a inoculação ou não do fungo micorrízico *R. clarus* nas mudas de tabaco.

Os tratamentos estão descritos na Tabela 5, totalizando oito tratamentos e quatro repetições. Cada uma das 32 parcelas foi composta de 54 plantas (seis linhas de nove plantas), com espaçamento de 1,30 m por 0,40 m (Figura 5).

Tabela 5: Descrição dos tratamentos onde o fator 1 corresponde as doses de adubação Nitrogenada (cobertura) de 0, 140, 200 e 260 Kg/ha e o fator 2 corresponde a inoculação ou não do FMA *R. clarus*.

Tratamentos	Fator 1	Fator 2
	Dose de N (kg/ha)	Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>
1	0	Não inoculado
2	0	Inoculado
3	140	Não inoculado
4	140	Inoculado
5	200	Não inoculado
6	200	Inoculado
7	260	Não inoculado
8	260	Inoculado

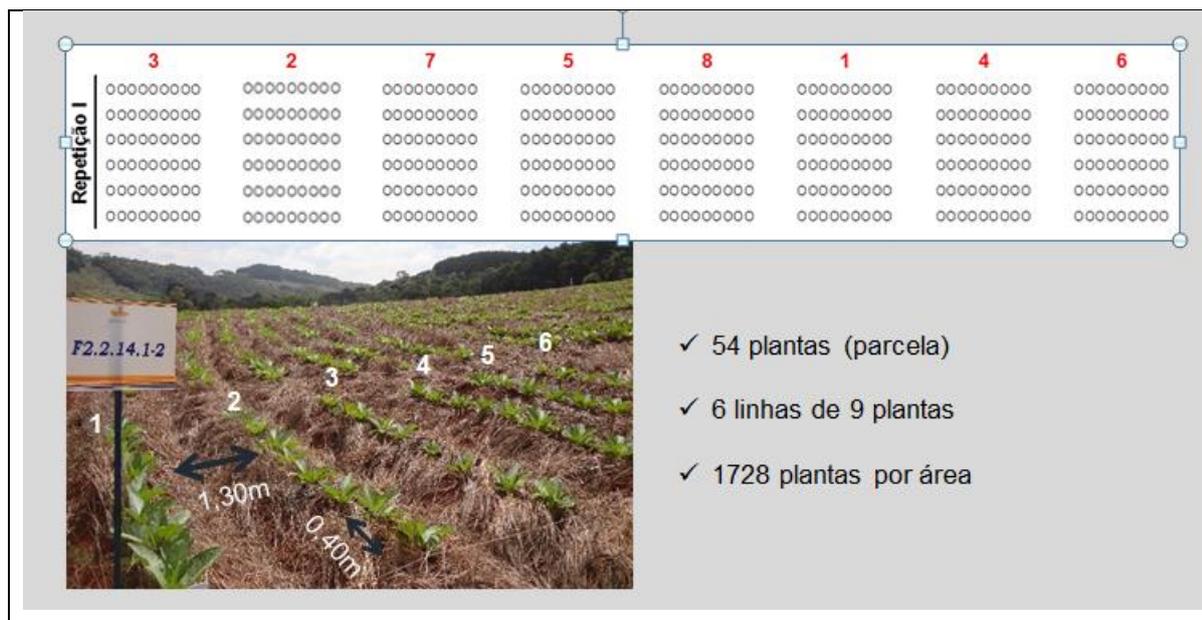


Figura 5: Na parte superior o croqui da repetição 1 para exemplificar a disposição dos tratamentos (blocos ao acaso) com 54 plantas cada. Na parte inferior a foto retirada em campo de uma parcela para exemplificar a disposição das seis linhas de nove plantas.

4.5 Tratos culturais na lavoura

O solo foi preparado com camalhões altos de base larga com arado borboleta. A adubação verde de inverno utilizada na área 1 foi centeio (200 Kg/ha) e na área 2 foi Aveia Preta (200 Kg/ha).

Como adubação de base foi utilizado 600 kg/ha do adubo NPK (10-16-10) em todos os tratamentos, exceto tratamentos 1 e 2 (controle sem adubação). As mudas foram transplantadas para lavoura conforme delineamento experimental descrito no item 4.4. Foram utilizados agroquímicos para o controle de ervas daninhas, pragas e doenças, conforme Tabela 4.

A adubação de cobertura para os tratamentos com 140, 200 e 260 kg/ha de N foi realizada com ureia (45-00-00) sendo dividida em três aplicações 15, 30 e 45 dias após o plantio.

4.6 Coleta e preparo das amostras para as análises

O efeito da inoculação de *R. clarus* em tabaco foi avaliado pela quantificação de colonização micorrízica das raízes e seus efeitos na absorção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e na produção de biomassa (peso seco da parte

aérea).

Para avaliar a colonização das mudas por *R. clarus*, aos 45 dias após a semeadura, foi realizada a análise do percentual de micorrização das bandejas produzidas na área 1 e na área 2. Para tanto foram coletadas cinco mudas de quatro bandejas contendo substrato inoculado com *R. clarus*, totalizando 20 mudas por área. As mudas foram arrancadas inteiras da bandeja sendo retirado o excesso de substrato das raízes em água corrente.

Para as avaliações de fósforo, nitrogênio, massa seca e qualidade, foram utilizadas somente as plantas centrais da parcela, totalizando 28 plantas. Das demais plantas que compunham a parcela, oito plantas foram selecionadas aleatoriamente para análise do percentual de micorrização: quatro plantas aos 45 dias e quatro plantas aos 90 dias após o transplante.

Para análise da colonização micorrízica após o transplante, as raízes das plantas foram arrancadas com o auxílio de uma pá de corte, tendo o cuidado para não despedaçar as raízes na hora de puxar. Após as raízes foram sacudidas levemente para retirar o excesso de solo sendo lavadas posteriormente em água corrente.

Quando o tabaco atingiu o estágio de bem maduro, apresentando cor tigrada e talo esbranquiçado (120 dias após transplante) as 28 plantas centrais foram coletadas inteiras de uma única vez, realizando um corte com facão próximo a raiz. Oito plantas foram destinadas para determinação de massa seca (folhas e caule) e teores de nutrientes (análise de fósforo e nitrogênio). As 20 plantas restantes da parcela foram curadas naturalmente em galpão, na densidade de 30 plantas/m², cujo processo levou 45 dias. Somente após este período foi realizada a análise de rendimento qualitativo do tabaco.

4.6.1 Análise de micorrização

Para análise da porcentagem de colonização micorrízica das mudas e das plantas primeiramente foi realizado a coloração das estruturas micorrízicas, onde as raízes foram submetidas ao processo de coloração segundo protocolo de Phillips & Hayman (1970). Para quantificação da porcentagem de colonização foi utilizado o método de interseções em linha de grade (grid-line) descrito por Giovanetti & Mosse (1980), sendo os resultados expressos em percentual de micorrização.

4.6.2 Análise de nitrogênio total

A análise do percentual de nitrogênio das folhas foi realizada conforme norma operacional do laboratório de análises químicas da Souza Cruz – Cachoeirinha. Para sua determinação aplica-se o método Kjeldahl baseado em uma digestão ácida seguida de uma destilação por arraste a vapor.

Primeiramente pesa-se a amostra e introduz-se em um tubo digestor, onde logo são adicionados 1,5 g de mistura catalítica (sulfato de potássio e sulfato de cobre, na proporção 10:1) e 4 mL de ácido sulfúrico. Então, o tubo é digerido por 1 hora à 400°C. Durante a digestão da amostra, ocorre a decomposição da matéria orgânica devido a sua reação com um ácido oxidante à 400°C formando uma amina primária. Nessa etapa também há presença de sulfato de cobre, um catalisador que acelera a oxidação da matéria orgânica. A seguir, a amina formada reage com a água gerando amônia. Esta, por sua vez, reage com o ácido presente no meio e forma sulfato de amônio ao término da digestão.

O produto da digestão é tratado em meio alcalino liberando amônia. A mesma é destilada por arraste de vapor e recolhida em solução de ácido bórico formando um complexo básico de tetraborato de amônio o qual é dosado com ácido clorídrico através de titulação potenciométrica, sendo os resultados emitidos em % nitrogênio (GAERTNER e GALVANI, 2006). Após os resultados foram convertidos para grama de fósforo por Kg de massa seca das folhas.

4.6.3 Análise de fósforo das folhas

Foi realizada conforme norma operacional do laboratório de análises químicas da Souza Cruz – Cachoeirinha. Para esse ensaio, pesa-se uma massa definida de amostra em um cadinho de porcelana que é aquecido em mufla por algumas horas, chegando até 650°C. Após essa etapa de digestão, adiciona-se ao cadinho resfriado, 5 mL de ácido clorídrico 4 mol.L⁻¹, então, o conteúdo do cadinho é filtrado através de um papel filtro para um balão volumétrico de 100 mL a fim de retirar o material inorgânico. Esse procedimento é repetido, adicionando-se mais 5 mL de ácido clorídrico ao cadinho e filtrando seu conteúdo para o mesmo balão. A seguir, lava-se o cadinho, o funil e o papel de filtro com água deionizada e avoluma-se o balão. Posteriormente, pipeta-se 5 mL das amostras e dos pontos de calibração para tubos de ensaio de vidro e prepara-se uma solução que formará o complexo $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot \text{NH}_4\text{VO}_3 \cdot \text{MoO}_3$ a partir de soluções de

metavanadato de amônio e molibdato de amônio. Desta solução, pipeta-se 4 mL para cada tubo e homogeniza-se em um agitador vortex formando o complexo de coloração amarela. Após 20 minutos de reação é realizada a leitura no espectrofotômetro Cary100 em cubeta de quartzo de 1 cm x 1 cm, no comprimento de onda de 420 nm, que fornece o resultado em % de fósforo. Após os resultados foram convertidos para grama de fósforo por Kg de massa seca das folhas.

4.6.4 Análise de massa seca

Para determinação da massa seca das folhas e do caule, foram utilizadas oito plantas de cada parcela, sendo separado o caule das folhas para a análise. Posteriormente foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e logo após colocadas em estufa a 65°C durante 72 h ou peso constante, de acordo com Hurng e Kao (1993). Após o período de secagem foram pesadas em balança de precisão para determinação da massa seca total das folhas e do caule, sendo os resultados expressos em gramas.

4.6.5 Análise do Índice de Qualidade da Safra

O rendimento qualitativo do tabaco foi calculado pelo Índice de qualidade da Safra (IQS). Essa é uma ferramenta de mensuração utilizada como indicador de qualidade do tabaco internalizado na safra, o qual é atribuído um valor (nota) a cada classe interna de acordo com suas características e ou elementos qualitativos, levando em consideração a espessura, estrutura foliar, maturidade, oleosidade e intensidade de cor, onde cada empresa fumageira estabelece seu método de qualificação interno, tendo como base a Instrução Normativa MAPA nº.10 DOU 16.04.2007.

4.7 Análise Estatística

Estatística descritiva dos resultados foi realizada utilizando análise de variância para o delineamento experimental em blocos casualizados com delineamento de tratamentos em esquema fatorial 4x2 e teste de Duncan para comparações múltiplas.

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação do desenvolvimento das mudas colonizadas por *R. clarus*

As mudas colonizadas por *R. clarus* apresentaram maior densidade de raízes e maior desenvolvimento em altura, conforme pode ser visualizado na Figura 6. As plantas micorrizadas atingiram 15 cm de altura a partir da base e as mudas não micorrizadas 10 cm.

Com relação a massa seca as mudas colonizadas por *R. Clarus* diferiram estatisticamente das mudas controle sem inoculação, apresentando maior massa seca tanto da parte aérea quanto das raízes (Tabela 6).

Tabela 6: Resultados de massa seca das mudas (média de 6 repetições compostas por três mudas cada).

Tratamento	Massa seca da raiz (g)*	Massa seca da parte aérea (g)*
Controle	0,05 B	0,26 B
Inoculadas com <i>R.clarus</i>	0,13 A	0,77 A

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.



Figura 6: Fotos ao final de 60 dias da produção de mudas em casa de vegetação. A. Foto das mudas do controle sem inoculação. B. Foto das mudas inoculadas com *R. clarus*.

5.2 Avaliação do efeito dos agroquímicos na colonização por *R. clarus*

Na fase de produção de mudas não foi observado efeito prejudicial dos agroquímicos utilizados no percentual de colonização micorrízica, sendo o menor percentual observado no produto Azamax de 21,5% versus 22% do Controle sem nenhuma aplicação (Figura 7).

Em vaso o menor percentual observado foi na utilização do produto Confidor Supra de 61,7% versus 72% do Controle (Figura 8).

Nenhum dos produtos utilizados inviabilizou o processo de micorrização por *R. Clarus*.

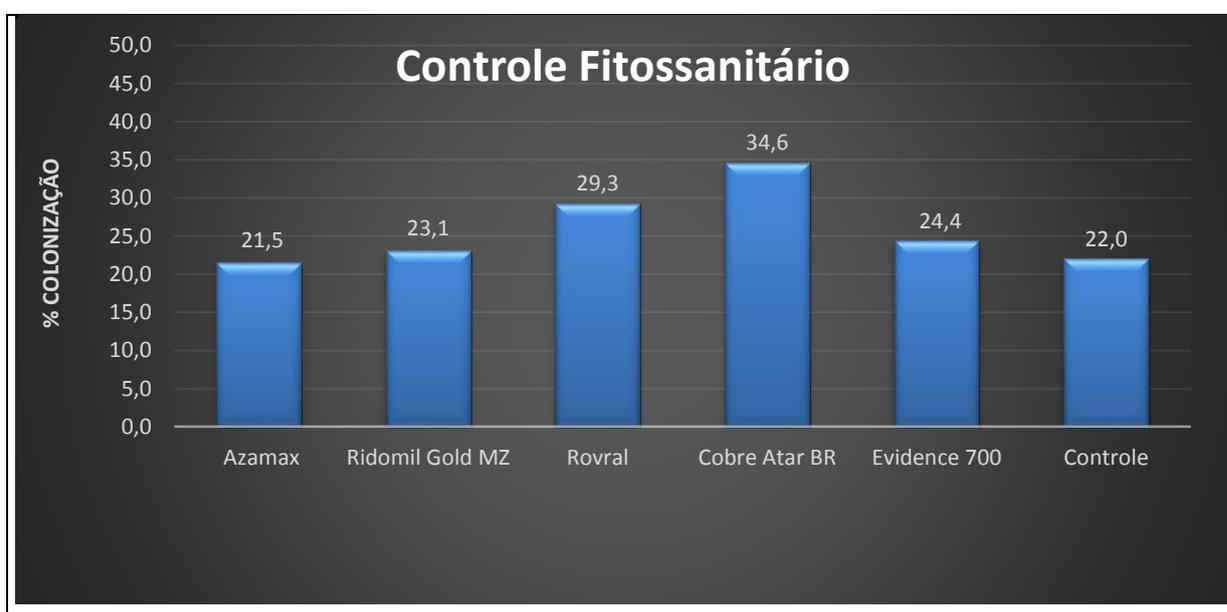


Figura 7: Resultado do percentual de colonização por *R. clarus* na fase de produção de mudas submetidas a tratamentos com agroquímicos.

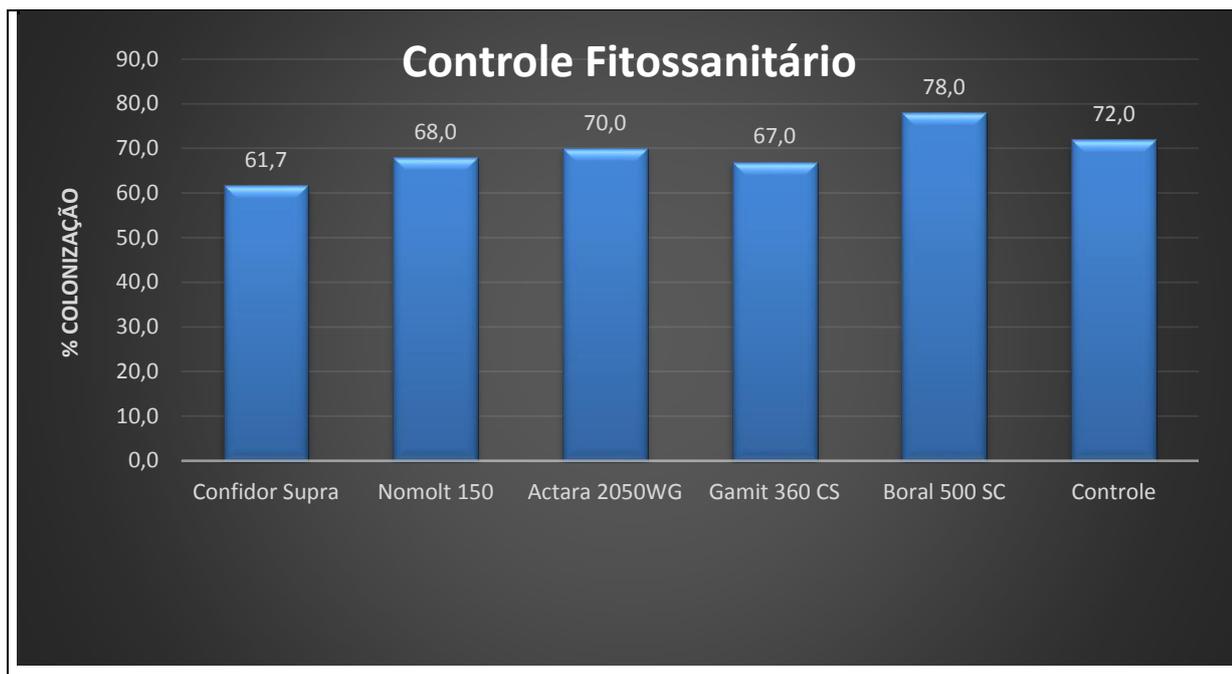


Figura 8: Resultado do percentual de colonização por *R. clarus* 60 dias após transplante em vaso em plantas submetidas a tratamentos com agroquímicos.

5.3 Análise da colonização micorrízica das mudas no sistema floating

Ao final da produção de mudas foi realizada a análise do percentual de micorrização de todas as bandejas inoculadas com *R. clarus*, obtendo a média percentual de 20,7% para área 1 e 72,2% para área 2 (Tabela 7).

O sistema float utilizado na produção de mudas não impediu a colonização das raízes, porém as diferentes bandejas (plástica e isopor) utilizadas na fase de produção de mudas apresentaram grande influência na colonização das raízes, onde o maior percentual foi observado nas bandejas de isopor na área 2.

Tabela 7: Resultado da média do percentual de colonização das raízes de 5 mudas de tabaco de quatro bandejas inoculadas com *Rhizophagus clarus* na área 1 e 2.

Área	Bandeja 1	Bandeja 2	Bandeja 3	Bandeja 4	Média por area*
1	21,7	21,9	18,9	20,1	20,7B
2	55,8	75,9	80,8	76,2	72,2A

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

5.4 Análise da colonização micorrízica das plantas cultivadas em lavoura

Na área 1 as amostras das raízes das parcelas não inoculadas com *R. clarus*, foram perdidas pela transportadora (tratamentos 1, 3, 5 e 7), sendo realizado somente a análise das parcelas inoculadas (Tabela 8), onde não se observou diferença entre os tratamentos.

A análise da colonização por *R. clarus* avaliada aos 45 dias e 90 dias após o transplante só foi realizada em todos os tratamentos na área 2, onde não foi observado diferença entre os tratamentos aos 45 dias e 90 dias de plantio. Aos 45 dias a colonização variou de 64% a 78%, e aos 90 dias foi entre 71% e 81,2% (Tabela 9).

Tabela 8: Resultado da média de quatro repetições da colonização micorrízica da raiz aos 45 dias e 90 dias após o transplante do tabaco inoculado e não inoculado com *R. clarus* na área 1, cultivado com diferentes doses de nitrogênio.

TRATAMENTOS	ADUBAÇÃO	<i>R. clarus</i>	MICORIZAÇÃO (%) 45 DIAS*	MICORIZAÇÃO (%) 90 DIAS*
2	0	SIM	65,5	70,0
4	140	SIM	65,3	70,7
6	200	SIM	76,7	75,3
8	260	SIM	63,0	69,0

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Tabela 9: Resultado da média de quatro repetições da colonização micorrízica da raiz aos 45 dias e 90 dias após o transplante do tabaco inoculado e não inoculado com *R. clarus* na área 2, cultivado com diferentes doses de nitrogênio.

TRATAMENTOS	ADUBAÇÃO	<i>R. clarus</i>	MICORIZAÇÃO (%) 45 DIAS*	MICORIZAÇÃO (%) 90 DIAS*
1	0	NÃO	76,0	71,0
2	0	SIM	69,5	78,0
3	140	NÃO	75,0	77,9
4	140	SIM	77,5	72,5
5	200	NÃO	64,0	74,0
6	200	SIM	69,5	71,0
7	260	NÃO	76,5	81,2
8	260	SIM	78,0	75,5

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

5.5 Análise de massa seca total

Área 1

Não foi observado interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* na massa seca total (folhas e caule) da área 1 (Tabela 10).

Foi observada diferença significativa na massa seca quanto à dosagem de nitrogênio. Nos tratamentos onde não ocorreu adubação foi observado diferença significativa dos tratamentos adubados. Quanto maior a dosagem de nitrogênio maior a massa seca observada. As diferentes doses de adubação 200 kg/ha e 260 kg/ha não diferiram significativamente entre si. Não foi observado diferença significativa quanto a presença ou ausência de inoculação com *R. clarus*.

Tabela 10: Resultado da média de quatro repetições da massa seca total – folhas e caule (g) na área 1, das plantas de tabaco adubadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim	Média*
0	920	789	854 C
140	1872	1629	1751 B
200	1924	2054	1989 A
260	1982	2155	2069 A
Média*	1674	1657	1666
C.V.(%)=		10,54	

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Área 2

Não foi observado interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* na massa seca total (folhas e caule) da área 2 (Tabela 11). Foi observada diferença significativa na massa seca total (folhas e caule) quanto à dosagem de nitrogênio. O tratamento controle, onde não ocorreu adubação, diferiu significativamente dos tratamentos adubados, no entanto, entre as doses não houve diferença significativa. Não foi observado diferença significativa quanto a presença ou ausência de inoculação com *R. clarus*.

Tabela 11: Resultado da média de quatro repetições da massa seca total - folhas e caule (g) na área 2, das plantas de tabaco adubadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim	Média*
0	1109	1231	1170 B
140	1540	1743	1641 A
200	1581	1460	1520 A
260	1590	1579	1584 A
Média*	1455	1503	1479
C.V.(%)=		13,3	

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

5.6 Análise de nitrogênio total das folhas

Área 1

Não foi observado interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* (Tabela 12). Os resultados de nitrogênio total da área 1 apresentaram diferença significativa quando ao fator doses de nitrogênio. O tratamento controle diferiu significativamente dos tratamentos adubados e as plantas adubadas com 200 e 260 Kg/ha não diferiram entre si. Não foi observado diferença significativa quanto a presença ou ausência de inoculação com *R. clarus*.

Tabela 12: Resultado da média de quatro repetições da concentração de nitrogênio total nas folhas de tabaco (g/Kg) cultivado com diferentes doses de nitrogênio na área 1 e inoculados ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim	Média*
0	15,53	13,51	14,52 C
140	32,75	26,27	29,51 B
200	40,10	40,65	40,38 A
260	44,36	41,87	43,12 A
Média*	33,19	30,58	31,88
C.V.(%)=		12,36	

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Área 2

Não foi observado interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* na análise de nitrogênio total das folhas.

Não foi observado diferença significativa quanto a presença ou ausência de inoculação com *R. clarus*. Diferença significativa foi observada quanto à adubação nitrogenada sendo que quanto maior a adubação maior foi a concentração de nitrogênio total nas folhas. O tratamento controle diferiu significativamente dos tratamentos adubados e as plantas adubadas com 140 e 200 Kg/ha não diferiram entre si. (Tabela 13).

Tabela 13: Resultado da média de quatro repetições do nitrogênio total nas folhas (g/Kg) cultivado com diferentes doses de nitrogênio na área 2 e inoculados ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim	Média*
0	22,98	24,98	23,98 C
140	32,62	37,30	34,96 B
200	35,99	33,49	34,74 B
260	39,04	41,35	40,20 A
Média*	32,66	34,28	33,47
C.V.(%)=		10,26	

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

5.7 Análise de fósforo das folhas

Área 1

Interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* pode ser observado na tabela 14.

Não foi observado diferença significativa entre as diferentes doses de adubação no tratamento não inoculado. No tratamento inoculado com *R. clarus*, observou-se que quanto maior a adubação nitrogenada maior foi a concentração de fósforo nas folhas. As maiores concentrações de fósforo foram observadas nos tratamentos com 200 e 260Kg/ha que diferiram estatisticamente dos tratamentos controle sem adubação e adubado com 140kg/ha (Tabela 14).

Quando avaliado o efeito da inoculação ou não de *R. clarus*, dentro de cada dose de adubação nitrogenada foi observado uma diferença significativa somente no tratamento controle (sem adubação) e adubado com 140kg/ha, onde o melhor resultado foi encontrado na ausência da inoculação de *R. clarus*.

Tabela 14: Resultado da média de quatro repetições da concentração de fósforo das folhas (g/Kg) na área 1, em plantas de tabaco cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim ¹	Média
0 ¹	2,26 a	1,77 Bb	2,01
140 ¹	2,66 a	2,12 Bb	2,39
200	2,34	2,63 A	2,49
260	2,21	2,59 A	2,40
Média	2,37	2,28	2,32
C.V.(%)=		13,79	

* Em cada linha, médias seguidas de mesma letra minúscula ou nenhuma letra não diferem ao nível de 5%. Em cada coluna, médias seguidas de mesma letra maiúscula ou nenhuma letra não diferem ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

(1) Interação significativa entre dose de N e micorrizas ao nível de 5%.

Área 2

Não foi observado interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* na análise de fósforo das folhas. Não foi observado diferença significativa entre as plantas inoculadas com *R. clarus* e as plantas controle sem inoculação, também não houve diferença significativa entre o controle sem adubação e os tratamentos adubados (Tabela 15).

Tabela 15: Resultado da média de quatro repetições da concentração de fósforo das folhas (g/Kg) na área 2, em plantas de tabaco cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim	Média*
0	1,63	1,99	1,81
140	1,94	2,05	1,99
200	1,90	1,79	1,84
260	1,91	1,92	1,92
Média*	1,84	1,94	1,89
C.V.(%)=		12,98	

*Médias acompanhadas de pelo menos uma letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

5.8 Índice de Qualidade da Safra

Área 1

Não foi observado interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* no Índice de Qualidade da Safra (IQS). Os resultados do IQS da área 1 não apresentaram diferença significativa em relação a inoculação com *R. clarus*. No entanto, as diferentes doses de nitrogênio apresentaram diferença significativa no IQS. As plantas não adubadas e a dose de 140 Kg/ha diferiram entre elas e as demais. No entanto, as doses de 200 e 260 kg/ha foram iguais entre elas, mas diferiram da dose de 140 kg/ha e o controle não adubado (Tabela 16).

Tabela 16: Resultado da média de quatro repetições do IQS das plantas de tabaco na área 1, cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim	Média*
0	49,4	48,1	48,8 C
140	55,4	54,5	55,0 B
200	60,0	64,4	62,2 A
260	65,0	66,1	65,5 A
Média*	57,4	58,3	57,5
C.V.(%)=		5,3	

*Médias acompanhadas de pelo menos 1 letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Área 2

O IQS da área 2 não apresentou diferença significativa entre as plantas inoculadas e não inoculadas com *R. clarus*. Foi observada diferença significativa no IQS quanto à dosagem de nitrogênio, aqueles tratamentos onde não ocorreu adubação diferiram significativamente dos tratamentos adubados (Tabela 17).

Tabela 17: Resultado da média de quatro repetições do IQS das plantas de tabaco na área 2, cultivadas com diferentes doses de nitrogênio e inoculadas ou não com *R. clarus*.

Fator 1 Dose de N (kg/ha)	Fator 2 – Inoculação de <i>Rhizophagus clarus</i>		
	Não	Sim	Média*
0	46,0	45,1	45,6 B
140	56,0	55,7	55,8 A
200	56,2	58,6	57,4 A
260	52,0	55,2	53,6 A
Média*	52,5	53,6	53,1
C.V.(%)=		7,1	

*Médias acompanhadas de pelo menos 1 letra igual ou nenhuma letra não são significativamente diferentes, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

6. DISCUSSÃO

O sistema float utilizado para produção de mudas de tabaco, onde as bandejas permanecem por 60 dias sob uma camada de água (máximo de 2cm) não impediu o estabelecimento da colonização micorrízica nas raízes inoculadas com *R. clarus*, onde foi observado uma variação entre 18,9 a 21,9% de colonização na área 1 e de 55,8 a 80,8% na área 2 (Tabela 7). Este resultado difere do relatado por Lincoln et al. (2017), que descreveram que certas práticas como cultivo em solução ou cultivo hidropônico podem eliminar ou reduzir a micorrização em certas plantas que normalmente realizam a simbiose.

Em outras culturas na fase de produção de mudas também ocorre uma colonização em torno de 20%, o que é bastante baixa, de acordo com a classificação apresentada por Carneiro et al. (1998). Na produção de mudas de morango em substrato de fibra de coco, inoculado com *Glomus intraradices*, a colonização observada foi de 20 a 40% (Palencia et al., 2013). Na produção de mudas de tabaco após 42 dias da semeadura o percentual de micorrização variou de 22,50% a 48,66% entre diferentes tratamentos (Hernandez et al., 2014).

Quando comparamos os diferentes tipos de bandejas utilizadas na fase de produção de mudas observou-se uma diferença na colonização sendo maior nas mudas inoculadas da área 2, onde foram utilizadas bandejas de isopor. Na bandeja de isopor as células são maiores 18cm³, o que fisicamente poderia explicar o maior estabelecimento da simbiose, maior quantidade inicial de inóculo do que nas bandejas plásticas onde o volume da célula é de 14 cm³. A bandeja plástica permanece o tempo inteiro em contato com o fundo do canteiro no floating, já a bandeja de isopor fica boiando, o que também facilita a maior expansão das raízes para fora das células da bandeja.

As plantas de tabaco são transplantadas para o campo quando atingem em torno de 15 a 20 cm de altura incluindo o torrão, o que ocorre normalmente 60 dias após a semeadura. Nessa fase é importante que as mudas tenham vigor e sanidade, para suportar o transplante e ter um bom desenvolvimento na lavoura. No experimento conduzido em casa de vegetação (Figura 6), foi possível observar um maior crescimento da parte aérea e da raiz das mudas inoculadas com *R. clarus* quando comparadas com o controle não

inoculado. Esse maior desenvolvimento das plantas inoculadas com *R. clarus* pode trazer vantagens competitivas para sobrevivência na lavoura comparado as plantas não inoculadas. Esse benefício, foi observado por Rojas et al. (2000) onde sete espécies florestais responderam positivamente à inoculação com FMA na fase de formação das mudas, apresentando um crescimento mais rápido comparado as plantas não inoculadas. Hernandez et al. (2014) ao inocularem mudas de tabaco com o FMA *Glomus cubense*, verificaram que aplicando 75% de fertilizante mineral + 0,50 kg de FMA/m² é possível obter uma produção com igual desempenho e qualidade de quando 100% de fertilizante mineral é aplicado, com um efeito econômico e ambiental positivo na produção de mudas.

Um maior desenvolvimento das mudas pode ser uma importante ferramenta para sobrevivência de plantas após transplante em áreas secas, degradadas ou com incidência de doenças. Song et al. (2015) demonstraram que a colonização micorrízica melhora a resistência do tomateiro no início da ferrugem estimulando a resposta sistêmica da via de sinalização do jasmonato, essencial para resistência a doenças. Já foi observado por outros autores que a micorrização das mudas favorece o seu crescimento inicial, e posteriormente, o seu estabelecimento no campo, apresentando diminuição do estresse causado pelo transplantio (Cavalcante et al., 2009; Lacerda et al., 2011).

Podemos observar na figura 6, maior densidade de raízes nas mudas que foram colonizadas por *R. clarus*. Segundo Drew et al. (2003) as hifas de FMA podem estender-se para além da superfície da raiz em mais de 10 cm, com um comprimento de micélio externo acima de 10 metros por grama de solo. Esta extensa rede de absorção, permite que as micorrizas acessem um maior volume de solo do que as raízes não colonizadas.

Os agroquímicos utilizados nas diferentes culturas podem interferir na colonização micorrízica das plantas, porém na cultura do tabaco os agroquímicos utilizados na fase de produção de mudas e na lavoura não impediram a colonização micorrízica das raízes, conforme demonstrado nas figuras 7 e 8. Após transplante todos os tratamentos apresentaram percentuais de micorrização acima de 60%, classificado como alto percentual de colonização segundo Carneiro et al. (1998).

Pesquisas em condições de campo são dificultadas pela interferência de fatores que não podem ser controlados como, por exemplo, os FMA nativos do

solo (Cavalcante et al., 2009). Neste trabalho esperava-se com a inoculação exógena de FMA aumentar a colonização das raízes, mas foi observado um grande percentual de micorrização nos tratamentos que não foram inoculados com *R. clarus*, não sendo observado diferença significativa entre os tratamentos, demonstrando que as plantas de tabaco são altamente micotróficas.

Tanto a área 1 como a área 2 apresentaram argila na sua classificação textural. A simbiose com FMA pode ser influenciada por fatores bióticos e abióticos, e o solo pode influenciar o estabelecimento dos FMA, sendo a sua sobrevivência geralmente maior em solos argilosos do que arenosos (Ajeesh et al., 2015), explicando o alto percentual de micorrização por FMA nativos nos tratamentos não inoculados.

As áreas estudadas têm rotação de culturas e adubação verde, o que também favorece a maior colonização radicular por FMA. Segundo Siqueira et al. (2010) em sistemas de monocultivo observa-se uma diminuição na diversidade, na taxa de colonização radicular e na esporulação de FMA, quando comparado a sistemas de rotação de culturas e sistemas orgânicos. Não foi possível avaliar a diferença do percentual de micorrização entre os diferentes tratamentos na área 1 pois as parcelas referentes as amostras não inoculadas com *R. clarus* foram perdidas.

Neste trabalho não foi observada diferença na colonização micorrízica nos tratamentos adubados e controle não adubado, o que difere dos resultados encontrados por Mustafa et al. (2016), que confirmaram que uma diminuição na concentração de fósforo levou a um aumento significativo no percentual de micorrização das raízes. Isto pode ser explicado por um aumento na permeabilidade da membrana celular levando à liberação pelas raízes de metabólitos importantes para o crescimento e desenvolvimento inicial dos esporos micorrízicos germinados.

Várias são as formas de avaliar a efetividade do FMA nas plantas, sendo a produtividade e a absorção de nutrientes nos tecidos uma delas.

Os resultados de massa seca total da área 1 e 2 diferiram significativamente quanto ao fator doses de nitrogênio e não apresentaram diferença significativa em relação a presença ou ausência de inoculação de *R. clarus*. Segundo Cavalcante et al. (2009) populações de FMA podem estabelecer a colonização de raízes sem proporcionar a melhoria no crescimento de sua

hospedeira, mesmo tendo um alto índice de colonização. Na fase de produção de mudas em casa de vegetação (Tabela 6) foi possível observar diferença significativa na massa seca da parte aérea das plantas inoculadas com *R. clarus*. Segundo Pereira et al. (2012) as micorrizas são sistemas biológicos fortemente influenciados pelo ambiente não sendo observado o mesmo resultado da produção de mudas em lavoura pois após transplante as condições do solo e da microbiota nativa podem influenciar o resultado.

Os resultados de fósforo na área 2 não apresentaram diferença significativa quanto ao fator adubação e inoculação com FMA *R. clarus*. O mesmo foi observado por Cavalcante et al. (2009) onde plantas de trigo mantidas em cultivo hidropônico e inoculadas com *G. mosseae* não apresentaram diferenças na concentração de fósforo em relação às plantas controle sem inoculação.

Na área 1 foi observado interação significativa entre os fatores doses de nitrogênio e inoculação com *R. clarus* (Tabela 14), onde no tratamento inoculado com *R. clarus*, quanto maior a adubação, maior a concentração de fósforo nas folhas. As maiores concentrações de fósforo foram observadas nos tratamentos com 200 e 260Kg/ha de nitrogênio que diferiram estatisticamente dos tratamentos controle sem adubação e adubado com 140kg/ha. Esse resultado também foi encontrado por Cely et al. (2016) onde a inoculação de *R. clarus* em soja proporcionou diferença significativa na absorção de fósforo comparada ao controle sem inoculação e adubação. Sena et al. (2014) também relataram que a associação de FMA pode ser um mecanismo para melhorar e aumentar a absorção deste nutriente proveniente da adubação química convencional.

A associação simbiótica das plantas com FMA também pode influenciar na absorção de outros nutrientes como o nitrogênio, conforme descrito por Siqueira, et al. (2010), porém isso não foi observado neste trabalho, sendo a adubação nitrogenada o fator significativo da absorção de nitrogênio pelas folhas de tabaco. Os maiores percentuais de nitrogênio nas folhas foram observados nos tratamentos onde ocorreu uma maior adubação nitrogenada 260 Kg/ha tanto na área 1 como na área 2, diferindo significativamente dos tratamentos controle (não adubado) e adubado com 140Kg/ha.

Quando se fala em qualidade do tabaco produzido, não se observou diferença significativa no IQS na área 1 e 2 quanto ao fator inoculação de *R. clarus*. Na área 1 foi possível perceber que quanto maior a adubação nitrogenada,

maior foi o IQS, sendo que os tratamentos sem adubação e com 140Kg/ha, diferiram significativamente dos demais. Já na área 2 essa diferença foi observada somente com relação ao tratamento sem adubação versus os adubados. O fator qualidade esta ligada não somente a condução do tabaco no período de lavoura, mas também a etapa de cura que se não for bem conduzida pode implicar em baixa qualidade.

As micorrizas são sistemas biológicos fortemente influenciados pelo ambiente e por inúmeros fatores edáficos que irão influenciar de modo direto ou indireto na formação, funcionamento e ocorrência dessa simbiose (Pereira et al., 2012). O cultivo de tabaco adota práticas culturais que favorecem a multiplicação de FMA no solo, como rotação de culturas e a adubação verde (Siqueira et al., 2010), o que pode ser confirmado pelos altos percentuais de micorrização inclusive das plantas que não foram inoculadas com *R. clarus*.

Neste trabalho não foram observados resultados significativos em lavoura na absorção de nitrogênio e produtividade das plantas de tabaco inoculadas com *R. clarus*. Observou-se diferença significativa no desenvolvimento das plantas na fase de produção de mudas, o que traz muitas vantagens para sobrevivência das plantas na lavoura, comparado a plantas não micorrizadas. Em trabalhos futuros serão avaliados outros fatores como ação de bioncontrole sobre certos patógenos e pragas, aumento da tolerância ao estresse hídrico e salino e amenização de estresse causado por metais pesados.

7. CONCLUSÃO

Mudas de tabaco inoculados com o FMA *R. clarus* apresentam maior desenvolvimento da parte aérea e da raiz do que mudas não inoculadas.

Os agroquímicos utilizados na produção de tabaco não inviabilizam a colonização das raízes pelo FMA *R. clarus*.

O maior percentual de micorrização nas mudas de tabaco foi observado nas bandejas de isopor na área 2.

Não foi observada diferença no percentual de micorrização das plantas após o transplante entre os diferentes tratamentos, demonstrando que plantas de tabaco são altamente micotróficas.

A fertilização química convencional foi efetiva na produtividade, qualidade e absorção de nutrientes em tabaco, sendo observado interação significativa entre adubação nitrogenada e inoculação do FMA *R. clarus* na absorção de fósforo pelas folhas na área 1.

Não foram observados resultados significativos na produtividade, qualidade e absorção de nitrogênio das plantas colonizadas por FMA, mas a colonização propiciou maior desenvolvimento das plantas na fase de produção de mudas, o que pode vir a oferecer uma maior proteção contra ação de patógenos e estresse ambiental.

8. REFERÊNCIAS

- ANDA. **Associação Nacional para difusão de adubos. Publicações - Seminários - O Uso de Fertilizantes Minerais e o Meio Ambiente.** 2003. Disponível em: http://www.anda.org.br/multimidia/fertilizantes_meio_ambiente.pdf. Acesso em 18/03/2017.
- ANDA. **Associação Nacional para difusão de adubos. Estatísticas - planilhas -Principais indicadores do setor de fertilizantes.** 2017. Disponível em: http://www.anda.org.br/estatistica/Principais_Indicadores_2017.pdf. Acesso em 18/03/2017.
- Andrade G, Oliveira AG, Cely MVT. 2014. **Processo de Produção e Inoculação de Fungos Micorrízicos Arbusculares.** Brasil Patente nº BR1020140173897. Londrina, PR: Instituto Nacional de Propriedade Intelectual.
- Andrade SAL, Mazzafera P, Schiavinato MA, Silveira APD. 2009. REVIEW Arbuscular mycorrhizal association in coffee. *Journal of Agricultural Science.* 147:105–115.
- AFUBRA. **Associação dos Fumicultores do Brasil – Notícias – Institucional - Prefeitos se reúnem em Brasília para defender cadeia produtiva do tabaco.** 2014. Disponível em: <https://afubra.com.br/noticias/6680/prefeitos-se-reunem-em-brasilia-para-defender-cadeia-produtiva-do-tabaco-.html>. Acesso em: 15/03/2017.
- Aguilar CA, Barea JM.1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza.* 6:457–464.
- Ajeesh R, Vikas K, Santoshkumar AV, Surendra GK. 2015. Harnessing Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) for Quality Seedling Production. *Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences* 3(6):22-40.
- Becard G, Fortin JA. 1988. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. *New Phytologist*, v.108, p.211-218.
- Cardoso IM, Boddington C, Janssen BH, Oenema O, Kuyper TW.2004. Double pot and double compartment: Integrating two approaches to study nutrient uptake by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 260:301-310.
- Carneiro MAC, Siqueira OJ, Moreira FMS, Carvalho D, Botelho SA. 1998. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. *Cerne*, Lavras, 4(1):129-144.
- Cavalcante, UMT, Goto, BT, Maia, LC. 2009. Aspectos da simbiose micorrízica

arbuscular. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife, vols. 5 e 6, p.180-208.

Cely, MVT.2014. **Produção de inóculo *in vitro* de *Rhizophagus clarus* e sua aplicação em sistemas agrícolas.** Tese (Doutorado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná.

Cely MVT, Oliveira AG, Freitas VF, Luca MB, Barazetti AR, Santos IMO, Gionco B, Garcia GV, Prete CEC, Andrade G. 2016. Inoculant of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (*Rhizophagus clarus*) Increase Yield of Soybean and Cotton under Field Conditions. *Frontiers in Microbiology*.7 Article 120.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento - Informações agropecuárias - Safras - Safra Brasileira de grãos.** 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em 17/07/2018.

Corrêa CV, Mantoan LPB. 2017. Micorrizas aumentam o aproveitamento do fósforo. *Revista Campo & Negócios Grãos*. Post 17 de dezembro de 2017.

Drew EA, Murray RS, Smith SE, Jakobsen I. 2003. Beyond the rhizosphere: growth and function of arbuscular mycorrhizal external hyphae in sands of varying pore sizes. *Plant Soil*. 25:105-114.

Gaertner E, Galvani F. Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. Circular Técnica. ISSN 15171965. Corumbá: Embrapa, 2006.

Giovanetti M, Mosse B. 1980. Evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular micorrhizal infections in roots. *New Phytol*. 84:489–500.

Halder M, Dhar PP, Mujib ASM, Khan MS, Joandar JC, Akhter S. 2015. Effect of Arbuscular Mycorrhiza Fungi Inoculation on Growth and Uptake of mineral nutrition in *Ipomoea aquatic*. *Current World Environment*. 10(1):67-75.

Hernández YC, Rubido MG, González YL, Aguiar YA. 2014. Influencia de la aplicación de micorrizas arbusculares y la reducción del fertilizante mineral en plántulas de tabaco. *Cultivos Tropicales*. 35 (1):21-24.

Hodge A. 2003. Plant Nitrogen Capture from Organic Matter as Affected by Spatial Dispersion, Interspecific Competition and Mycorrhizal Colonization. *The New Phytologist* Vol. 157, No. 2, pp. 303-314.

Hoffmann LV, Lucena VS. 2006. Para entender Micorrizas Arbusculares. Embrapa Algodão. Documento 156:1:22.

Hung WP, Kao CH. 1993. Growth responses of tobacco to flooding. *Botanical Bulletin Academia Sinica, Taiwan*. 34:243-247.

INVAM (International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi). **The Fungi – Classification - Classification of Glomeromycota.**

2013. Disponível em: <http://fungi.invam.wvu.edu/the-fungi/classification.html>. Acesso em 27/05/2018.
- Jung SC, Medina AM, Raez JAL, Pozo MJ. 2012. Mycorrhiza-Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. *Journal of Chemical Ecology*. 38:651–664.
- Lacerda KAP, Silva MMS, Carneiro MAC, Reis EF, Júnior OJS. 2011. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada no crescimento inicial de seis espécies arbóreas do cerrado. *Cerne, Lavras*. 17(3):377-386.
- Langeroodi ARS, Ghoshchi F, Dadgar T. 2017. Alleviatory Activities in Mycorrhizal Tobacco Plants Subjected to Increasing Chloride in Irrigation Water. *Italian Journal of Agronomy*. 12(1).
- Lemos RC, Santos RD, 1996. **Manual de descrição e coleta de solo no campo** - 3ed. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - 83p.
- Lincoln T, Zeiger E, Muller IM, Murphy A, 2017. **Fisiologia e Desenvolvimento vegetal** - 6ed. Artmed Editora - 888 páginas.
- Marschner H, Dell B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*. 159:89-102.
- Miyauchi MYH, Lima DS, Nogueira MA, Lovato GM, Murate LS, Cruz MF, Ferreira JM, Zangaro W, Andrade, G. 2008. Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. *Sci. Agric*. 65:525-531.
- Miranda JCC, Vilela L, Miranda LN. 2005. Dinâmica e contribuição da micorriza arbuscular em sistemas de produção com rotação de culturas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 40:1005-1014.
- Moreira FMS, Siqueira JO. 2006. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2nd ed. Lavras: UFLA. 729p.
- Mustafa G, Randoux B, Tisserant B, Fontaine J, Robert MM, Sahraoui ALH, Reignault P. 2016. Phosphorus supply, arbuscular mycorrhizal fungal Species, and plant genotype impact on the protective efficacy of mycorrhizal inoculation against wheat powdery mildew. *Mycorrhiza*. Published online. 26:685-697.
- Palencia P, Martínez F, Oliveira JA. 2013. Efecto de micorrizas en plantas de fresa cultivadas en sistema de cultivo sin suelo. *Agrícola vergel: Fruticultura, horticultura, floricultura*. 32:13-16.
- Pereira MSF, Haddad LSAM, Bazzolli DMS, Kasuya MCM. 2012. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. *R. Bras. Ci. Solo*, 36:1663-1679.

- Phillips J, Hayman D. 1970. Improved producers for clearing roots and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans.Br. Mycol Soc.* 55:158–160.
- Rojas EP, Siqueira JO. 2000. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. *Pesq. agropec. bras.* 35(1):103-114.
- Rheinheimer DS, Kaminski J, Bortoluzzi EC. 1997. Produção de Fumo Virgínia afetada por micorrizas arbusculares e pH do solo. *Pesq. Agropec. Gaúcha*, 3(2):133-138.
- Sena JOA, Stefanutti R, Donha RMA, Cardoso EJBN. 2014. Cinética de absorção com doses de fósforo e fungos micorrízicos arbusculares em *Nicotiana tabacum*. *Científica, Jaboticabal.* 42(3):294-298.
- Silva CFO. **Influência da micorrização e do fósforo sobre a expressão diferencial de genes de defesa em raízes de tomateiro (*solanum esculentum*)**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
- Silveira RLL. 2015. A cultura do tabaco na Região Sul do Brasil: dinâmica de produção, organização espacial e características socioeconômicas. *Geografia Ensino & Pesquisa.* 19(2): 23-40.
- SINDITABACO. Sobre o Setor - Perfil Socioeconômico - Centro de Estudos e Pesquisas em Administração – UFRGS - Produtor de Tabaco da Região Sul do Brasil: Perfil Socioeconômico. 2016. Disponível em: http://sinditabaco.com.br/site/wp-content/uploads/2017/04/Pesquisa_Perfil_Socioeconomico.pdf. Acesso em:15/03/2017.
- SINDITABACO - Imprensa - Relesases - Brasil exporta mais de US\$ 2 bilhões em tabaco no último ano. 19/01/2017. Disponível em: <http://www.sinditabaco.com.br/brasil-exporta-mais-de-us-2-bilhoes-em-tabaco-no-ultimo-ano/>. Acesso em 15/03/2017.
- SINDITABACO - **Sobre o Setor - Exportações**. 2018. Disponível em: <http://www.sinditabaco.com.br/sobre-o-setor/exportacao/>. Acesso em: 15/03/2018.
- Siqueira JO, Lambais MR, Stürmer SL. 2002. Fungos Micorrízicos Arbusculares: Características, associação simbiótica e aplicação na agricultura. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento.* 25.
- Siqueira JO, Souza FA, Cardoso EJBN, Tsai SM. 2010. **Micorrizas:30 anos de pesquisas no Brasil**.Lavras.716p.
- Smith SE, Smith FA. 2011. Mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Plant Biol.* 62:227-250.

Song Y, Chen D, Kai L, Sun Z, Zeng R. 2015. Enhanced tomato disease Resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. *Frontiers in Plant Science*.6, article 786.

SOUZA CRUZ (A). **Nosso Mercado. Importância Global**. 2017. Disponível em: http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YDBC9. Acesso em 17/03/2017.

SOUZA CRUZ (B). **Nosso Mercado. O Tabaco na história**. 2017. Disponível em: http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YDBCK. Acesso em 17/03/2017.

SOUZA CRUZ (C). **Nossos Produtos. Tabaco**. 2017. Disponível em: http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YAEUN. Acesso em 17/03/2017.

Souza VC, Silva RA, Cardoso GD, Barreto AF. 2005. Estudos sobre fungos micorrízicos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*.10(3):612-618.

Stümer SL. 2004. Efeito de diferentes isolados fúngicos da mesma comunidade micorrízica no crescimento e absorção de fósforo em soja e trevo vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 28:611-622.

Viana FC. 2010. **Caracterização de populações de *Ralstonia solanacearum* em tabaco no Brasil**. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Viana FC, Berger IJ, Duarte V. 2012. Characterization of *Ralstonia solanacearum* Smith populations in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) from Brazil. *Trop. Plant Pathol*.37(2).

9. ANEXOS

9.1 Interpretação dos resultados da análise de solo para cultura de tabaco

pH		
< = 4.5		Acidez muito forte
4.6 – 5.0		Acidez forte
5.1 – 5.5		Acidez moderada
5.6 – 6.0		Acidez fraca
> = 6.1		Acidez muito fraca

Matéria Orgânica (M.O.) (% e g / dm ³ ou g / kg)		
%	g/dm ³ ou g/kg	Interpretação
< = 1.0	< = 10	Muito baixa
1.1 – 2.5	11 – 25	Baixa
2.6 – 3.5	26 – 35	Média
3.6 – 4.5	36 – 45	Alta
> = 4.6	> = 46	Muito alta

Cálcio, Magnésio e Cálcio + Magnésio (meq% ou cmol _c / dm ³)			Interpretação
Ca	Mg	Ca + Mg	
< = 1.0	< = 0.5	< = 1.5	Muito baixo
1.1 – 2.0	0.6 – 1.0	1.6 – 3.0	Baixo
2.1 – 4.0	1.1 – 2.0	3.1 – 6.0	Médio
> = 4.1	> = 2.1	> = 6.1	Alto

Potássio = K (meq% ou cmol _c / dm ³ e mg/dm ³ ou ppm)		
meq% ou cmol _c / dm ³	ppm ou mg/dm ³	Interpretação
< = 0.05	< = 20	Muito baixo
0.06 – 0.10	21 – 39	Baixo
0.11 – 0.20	40 – 78	Médio
0.21 – 0.30	79 – 117	Alto
> = 0.31	> = 118	Muito alto