

TANGERINEIRA 'CLEÓPATRA' SUBMETIDA A MICORRIZAÇÃO E A
UM ANÁLOGO DE BRASSINOSTERÓIDE

JALILLE AMIM ALTOÉ

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
AGOSTO - 2006

TANGERINEIRA 'CLEÓPATRA' SUBMETIDA A MICORRIZAÇÃO E A
UM ANÁLOGO DE BRASSINOSTERÓIDE

JALILLE AMIM ALTOÉ

Tese apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte Fluminense,
como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Produção Vegetal

Orientadora: Prof^a Cláudia Sales Marinho

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
AGOSTO - 2006

TANGERINEIRA 'CLEÓPATRA' SUBMETIDA A MICORRIZAÇÃO E A
UM ANÁLOGO DE BRASSINOSTERÓIDE

JALILLE AMIM ALTOÉ

Tese apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Produção Vegetal

Aprovada em 11 de agosto de 2006

Comissão Examinadora:

Prof^a. Mara Menezes de Assis Gomes (D.Sc., Fisiologia Vegetal) - FAETEC

Prof^a. Luciana Aparecida Rodrigues (D.Sc., Solos e Nutrição Mineral) -FAETEC

Prof. Almy Junior Cordeiro de Carvalho (D.Sc., Fruticultura Tropical) - UENF

Prof^a. Cláudia Sales Marinho (D.Sc., Fruticultura Subtropical) - UENF
Orientadora

A Deus, pela vida e pela oportunidade de trabalhar em Agricultura,

Aos meus pais, José Eurico e Jane, pelo amor incondicional e exemplo de vida,

Aos meus irmãos, Stéfano e José Eurico Filho,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos derramadas em todos os dias da minha vida;

Aos meus pais, José Eurico Altoé e Jane Rodrigues Amim Altoé, pelos princípios familiares e morais transmitidos ao longo dos anos;

Aos meus irmãos, Stéfano e José Eurico Filho, pelo incentivo a trilhar os caminhos que aqui me trouxeram;

A toda a minha família;

Ao meu namorado Ismael, pelo amor de todas as horas;

À orientadora Prof^a Cláudia Sales Marinho, pela amizade e por estar sempre disposta a escutar, discutir e contribuir;

Ao professor José Augusto Teixeira do Amaral, pela oportunidade e orientação na Iniciação Científica durante a Graduação;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela bolsa de estudo concedida;

Às professoras Luciana Aparecida Rodrigues e Mara Menezes de Assis Gomes e ao professor Almy Junior Cordeiro de Carvalho, pela colaboração e pelas sugestões para o projeto de tese;

Aos professores das disciplinas cursadas;

Ao pesquisador do IAC Marco Antônio Teixeira Zullo, por disponibilizar o regulador de crescimento para a pesquisa;

Ao Centro APTA Citrus Sylvio Moreira, por disponibilizar as sementes do porta-enxerto para a pesquisa;

Aos professores Pedro Henrique Monnerat e Marco Antônio Martins, por colocarem à disposição o Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas e Microbiologia do Solo;

Ao técnico de laboratório José Acácio, pela amizade e apoio imprescindível em todas as atividades realizadas;

A Andréia do Laboratório de Microbiologia do Solo, por ter sido atenciosa em todos os momentos;

Aos colegas do Laboratório de Fitotecnia, pelo agradável convívio durante o mestrado;

Ao Detony, pela grande ajuda nos trabalhos de laboratório;

Aos amigos Rodrigo, Josiane e Duwilhan, por não terem medido esforços para me ajudar;

Às secretárias da Pós-Graduação em Produção Vegetal (Luciana, Patrícia e Fátima) e ao Daniel, pelo carinho concedido durante o mestrado;

À secretária da Fitotecnia Isadelma, pelo carinho e atenção;

A Silvério e Inês, por sempre me acolherem com amor em sua casa;

À minha cunhada Lucille, pela sincera amizade;

Aos amigos (as) do Grupo de Oração Universitário (GOU), por me acolherem com alegria;

Ao amigo Edenilson, pela amizade;

A Geisa do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, pela amizade e carinho;

Ao técnico Jader, por toda a ajuda prestada durante a condução do experimento;

Às funcionárias da biblioteca, em especial a Conceição, Ângela, Luciane e Paloma, por sempre estarem de braços abertos para ajudar;

Aos funcionários da UAP;

A Graziella, pelo companheirismo diário.

A contribuição de cada um foi especial e de grande valor para a realização deste trabalho e para minha formação pessoal e profissional.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1. Sistema de produção de mudas cítricas em ambiente protegido.....	05
2.2. Adubação de porta-enxertos em viveiro.....	06
2.3. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares na citricultura.....	09
2.4. Brassinosteróides.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1. Experimento 1.....	18
3.1.1. Delineamento experimental.....	18
3.1.2. Obtenção e multiplicação do inóculo do fungo micorrízico.....	19
3.1.3. Tratamento da semente, recipiente utilizado e semeadura.....	19
3.1.4. Aplicação dos tratamentos.....	20

3.1.5. Manejo experimental.....	21
3.1.6. Avaliações biométricas.....	21
3.1.7. Análise de nutrientes das folhas e caules.....	22
3.1.8. Análise dos dados experimentais.....	23
3.2. Experimento 2.....	23
3.2.1. Delineamento experimental.....	23
3.2.2. Recipiente utilizado.....	23
3.2.3. Manejo experimental.....	24
3.2.4. Avaliações biométricas.....	25
3.2.5. Análise de nutrientes das folhas.....	25
3.2.6. Análises dos dados experimentais.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1. Experimento 1.....	27
l.1. Crescimento da tangerineira ‘Cleópatra’ da semeadura ao ponto de repicagem.....	27
4.1.2. Conteúdo de nutrientes na massa seca.....	34
l.3. Conteúdo de nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira ‘Cleópatra’ aos 140 dias após a semeadura.....	34
l.4. Conteúdo de nutrientes na massa seca do caule da tangerineira ‘Cleópatra’ aos 140 dias após a semeadura.....	36
l.5. Conteúdo de nutrientes na massa seca da parte aérea da tangerineira ‘Cleópatra’ aos 140 dias após a semeadura.....	38
4.2. Experimento 2.....	41

2.1.	Crescimento da tangerineira ‘Cleópatra’ do ponto de repicagem até aos 130 dias após a repicagem.....	41
4.2.2.	Conteúdo e Teores de nutrientes na massa seca.....	44
2.3.	Conteúdo de nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira ‘Cleópatra’ aos 130 dias após a repicagem.....	44
2.4.	Teores de nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira ‘Cleópatra’ aos 130 dias após a repicagem.....	46
5.	RESUMO E CONCLUSÕES.....	48
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
	APÊNDICE.....	67

RESUMO

ALTOÉ, Jalille Amim; Engenheira Agrônoma; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Agosto de 2006; Tangerineira 'Cleópatra' submetida a micorrização e a um análogo de brassinosteróide; Orientadora: Cláudia Sales Marinho.

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação no Campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, tendo como objetivo avaliar o efeito da inoculação do fungo micorrízico vesículo-arbuscular (FMA) *Acaulospora scrobiculata* e de diferentes concentrações de um análogo de brassinosteróide no crescimento vegetativo e estado nutricional da tangerineira 'Cleópatra', antes e após a repicagem. O primeiro experimento foi conduzido da semeadura (julho de 2005) até o ponto de repicagem (novembro de 2005) e o segundo do ponto de repicagem (novembro de 2005) até os 130 dias após a repicagem (março de 2006). O primeiro experimento foi instalado em delineamento experimental em blocos casualizados, em esquema fatorial 5 X 2, sendo 5 concentrações de um análogo de brassinosteróide, Biobras-16: 0,0 (testemunha); 0,1; 0,5; 0,75 e 1,00 mg L⁻¹ e com ou sem inoculação com o FMA *Acaulospora scrobiculata*, com 4 repetições, totalizando 40 parcelas. O porta-enxerto foi inoculado com o fungo micorrízico no momento da semeadura. As aplicações do Biobras-16 foram iniciadas aos 40 dias após a semeadura em intervalos de 15 dias, totalizando

seis aplicações. A inoculação com o FMA promoveu aumento na altura, no diâmetro do caule, no número de folhas, na área foliar e na massa seca das folhas e do caule da tangerineira 'Cleópatra'. As concentrações de 0,1, 0,5 e 1,00 mg L⁻¹ do BB-16 promoveram efeito benéfico no diâmetro do caule das plantas. Os conteúdos de N, P, K, Fe e Mn foram mais elevados nas plantas inoculadas. O Biobras-16 promoveu aumento no conteúdo de P, Ca e Mn nas plantas da tangerineira 'Cleópatra'. O segundo experimento foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 X 2, avaliando-se 5 concentrações de um análogo de brassinosteróide, Biobras-16: 0,0 (testemunha); 0,15; 0,3; 0,45 e 0,6 mg L⁻¹ e com ou sem inoculação com *Acaulospora scrobiculata*, com 4 repetições, totalizando 40 parcelas. As plantas inoculadas e não-inoculadas foram repicadas para os citrovasos, onde foi completada a formação das mudas. A primeira aplicação do Biobras-16 foi realizada aos 12 dias após a repicagem, sendo repetida a cada 20 dias, totalizando seis aplicações. A inoculação com o fungo micorrízico proporcionou aumento na altura, no número de folhas, no conteúdo e no teor de Fe e Mn na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem. As plantas inoculadas com o FMA, quando receberam a concentração de 0,45 mg L⁻¹ do Biobras-16, apresentaram maior teor de enxofre na massa seca das folhas do porta-enxerto.

ABSTRACT

ALTOÉ, Jalille Amim; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; August of 2006; 'Cleópatra' mandarin submitted to the micorrhization and the a analogue of brassinosteroid; Adviser: Cláudia Sales Marinho.

Two experiments were conducted in the greenhouse at The State University of North Fluminense, to evaluate the effects of the inoculation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) *Acaulospora scrobiculata* and different concentrations of a brassinosteroids analogue in the vegetative growth and nutritional state of the 'Cleópatra' mandarin, before and after the transplanting. The first experiment was conducted from the sowing (july, 2005) until transplanting (november, 2005) and the second from the transplanting (november, 2005) until the 130 days after the transplanting (march, 2006). The first experiment was a randomized block design with a 5 X 2 factorial scheme, using 5 concentrations of a brassinosteroids analogue Biobras-16 (BB-16): 0.0 (control), 0.1, 0.5, 0.75 and 1.00 mg L⁻¹, with or without AMF inoculation with 4 replicates of each treatment. The AMF inoculation was done while sowing. The applications of BB-16 were given 40 days after sowing with an interval of 15 days, totaling six shots. The AMF inoculation caused an increment in the height, the diameter of the stem, the number of leaves, leaf area and the dry mass of the leaf and the stem. The concentrations at 0.1, 0.5 and 1.00 mg L⁻¹ of BB-16 resulted in an increment of the diameter of the stem of the plants. The N, P, K, Fe and Mn contents

were higher in the AMF inoculated plants whereas BB-16 promoted an increment in the P, Ca and Mn content. The second experiment was designed in a similar way to the first one, to evaluate the effect of BB-16: 0.0 (control), 0.15, 0.30, 0.45 and 0.60 mg L⁻¹, with or without AMF inoculation after the transplanting. There were 4 replications for each treatment. The inoculated or non-inoculated plants (without BB-16 applications in the previous experiment) were transplanted in the pots. The first application of BB-16 was given 12 days after the transplanting, and was repeated at an interval of 20 days, totaling six applications. The inoculation with the mycorrhizal fungi caused an increment in the height, number of leaves, Fe and Mn content and concentration in the dry mass of the leaf after 130 days of the transplanting. The AMF inoculated plants along with BB-16 at 0.45 mg L⁻¹ concentration presented an increase in the concentration of sulfur in the dry mass of the rootstock.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de casas de vegetação tem possibilitado a obtenção de mudas cítricas vigorosas em curto espaço de tempo, em virtude de proporcionar maior controle sobre as condições ambientais (Carvalho, 1994). Essa técnica possibilita um controle mais adequado das fertilizações, minimiza os problemas com pragas e doenças da parte aérea, preserva a integridade do sistema radicular, facilita o pegamento no plantio (Grassi Filho et al., 2001), facilita o manejo e possibilita maior uniformidade das mudas (Carvalho, 1994). Um inconveniente desse sistema de produção de mudas seria o pequeno espaço para o desenvolvimento das raízes, aliado à intensa lixiviação de nutrientes devido às irrigações freqüentes e às pequenas dimensões dos recipientes, sendo necessária a utilização de uma tecnologia mais eficiente quanto à disponibilidade de nutrientes para as plantas (Carvalho, 1994, Carvalho e Souza, 1996, Vichiato et al., 1998, Perin et al., 1999, Carvalho et al., 2000).

O limoeiro 'Cravo' é um dos porta-enxertos predominantemente utilizados pelos viveiristas, entretanto com a incidência de doenças em plantas de laranja doce enxertadas em limoeiro 'Cravo', tem se buscado a diversificação de porta-enxertos, visando tornar a citricultura menos sujeita a eventuais riscos (Donadio et al., 1993). Dentre os porta-enxertos existentes, a tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort ex Tanaka) vem se destacando entre os mais utilizados pelos viveiristas na citricultura brasileira (Araújo e Salibe, 2002, Modesto et al., 1999). A tangerineira 'Cleópatra' pode ser utilizada como porta-enxerto para um grande

número de variedades comerciais de laranjeiras doces de interesse econômico (Silva et al., 2005), não apresentando sintomas de declínio (Beretta e Lefevre, 1986, Donadio et al., 1993, Prates e Guirado, 1993, Müller et al., 1997, Baldassari et al., 2003) ou morte súbita dos citros (Gimenes-Fernandes e Bassanesi, 2001, Gimenes-Fernandes et al., 2002, Girardi, 2005). Apesar desse porta-enxerto apresentar essas vantagens em relação ao limoeiro 'Cravo', por outro lado, seu crescimento é mais lento no viveiro, levando a um tempo maior para formação da muda cítrica (Modesto et al., 1999, Carvalho e Souza, 1996, Decarlos Neto, 2002, Jabur e Martins, 2002, Esposti e Siqueira, 2004).

A tangerineira 'Cleópatra' está entre as espécies cítricas mais dependentes de micorrização (Cardoso et al., 1986). A possibilidade da utilização de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares (FMAs) para favorecer a absorção de nutrientes e a obtenção de mudas de melhor qualidade tem sido uma vantagem adicional da utilização de sementeiras móveis para a produção de mudas de porta-enxertos. A formação de mudas cítricas micorrizadas com a utilização de recipientes em sementeira e viveiros demanda menor tempo para a produção da muda e melhora a qualidade da mesma (Weber, 1993). A utilização adequada de FMA para esse porta-enxerto pode vir a ser de interesse para a obtenção de mudas mais vigorosas e, possivelmente, para a redução de gastos com fertilizantes (Rocha et al., 1994).

O uso de reguladores de crescimento pode ser, também, outra alternativa para aumentar o vigor das mudas cítricas no viveiro. Os brassinosteróides são conhecidos como uma nova classe de substâncias endógenas que exercem efeitos morfogenéticos nas plantas. Segundo Vásquez e Rodríguez (2000), os brassinosteróides podem acelerar o crescimento das plantas e os seus efeitos não podem ser considerados de forma isolada, já que esses compostos interagem com outros reguladores de crescimento vegetal endógeno e com sinais ambientais, particularmente com a qualidade da luz.

Assim, espera-se que a viabilidade técnica de inoculação com fungos micorrízicos vesículo-arbusculares e a aplicação de substâncias promotoras de crescimento, como os brassinosteróides, proporcione maior uniformidade no desenvolvimento das mudas, contribuindo para a obtenção de mudas em menor tempo. Isso viabilizará a utilização de porta-enxertos menos vigorosos, mas que

apresente outras características agronômicas desejáveis, como é o caso da tangerineira 'Cleópatra'.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação do fungo micorrízico *Acaulospora scrobiculata* e a aplicação de diferentes concentrações de um análogo de brassinosteróide sobre o crescimento vegetativo e sobre o estado nutricional da tangerineira 'Cleópatra', antes e após a repicagem.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Problemas de ordem fitossanitária muitas vezes podem estar relacionados à qualidade da muda, afetando a produtividade e longevidade dos pomares (Baldassari et al., 2003). Dentre esses vários problemas, inclui-se a gomose de *Phytophthora*, a clorose variegada dos citros (CVC), o declínio dos citros (Beretta e Lefevre, 1986, Donadio et al., 1993, Prates e Guirado, 1993, Müller et al., 1997, Baldassari et al., 2003, Stuchi et al., 2004) e, ultimamente, a morte súbita dos citros (MSC) (Gimenes-Fernandes e Bassanezi, 2001, Gimenes-Fernandes et al., 2002, Müller et al., 2002, Jesus Junior e Bassanezi, 2004). O declínio dos citros ocorre, com mais freqüência, em laranjeiras enxertadas em limoeiro 'Cravo' (Müller et al., 2002) e a morte súbita dos citros vem ocorrendo em laranjeiras 'Valência', 'Natal', 'Pêra', 'Westin' e 'Hamlin' enxertadas, também, sobre o limoeiro 'Cravo' (Gimenes-Fernandes et al., 2002). Segundo Gimenes-Fernandes e Bassanezi (2001), plantas de laranjeira 'Natal' enxertadas sobre limoeiro 'Cravo' mostraram sintomas da MSC. Em contrapartida, talhão de laranjeira 'Natal' enxertada sobre o porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra', situado a menos de dez metros das plantas com MSC, não mostraram sintoma da doença.

O comportamento da tangerineira 'Cleópatra' como porta-enxerto tem sido satisfatório, praticamente se equiparando ao do limoeiro 'Cravo' com relação à produção para a variedade laranjeira 'Pêra' (Teófilo Sobrinho e Figueiredo, 1984). Donadio et al. (1993) relataram que a qualidade do fruto da maioria das

variedades comerciais enxertadas em 'Cleópatra' foi satisfatória, tanto para o mercado como para a indústria. Stuchi et al. (2004), avaliando a influência de dezesseis porta-enxertos na produtividade dos frutos da laranjeira 'Pêra', concluíram que a tangerineira 'Cleópatra' pode proporcionar atributos de qualidade do fruto superiores aos do limoeiro 'Cravo'.

Figueiredo et al. (1997), avaliando o comportamento de dezesseis porta-enxertos na produção inicial do tangor 'Murcote', concluíram que a tangerineira 'Cleópatra' estava entre os porta-enxertos que, além de proporcionarem as maiores produções em massa de frutos, conferiram maior desenvolvimento vegetativo às plantas. Figueiredo et al. (2005), avaliando o comportamento de quatorze porta-enxertos para o limoeiro 'Eureka km 47', concluíram que as maiores produções médias em peso de frutos estiveram relacionadas ao porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra'. Graça et al. (2001), avaliando a produção, qualidade dos frutos e o desenvolvimento vegetativo de onze porta-enxertos em combinação com a copa de laranjeira 'Natal', concluíram que a tangerineira 'Cleópatra' estava entre os melhores indutores para o incremento na porcentagem de suco e também se destacou quanto ao desenvolvimento vegetativo das plantas de laranjeira 'Natal'.

2.1. Sistema de produção de mudas cítricas em ambiente protegido

Com o objetivo de colocar à disposição dos produtores de mudas material de propagação com garantia de origem e sanidade, bem como oferecer, aos produtores rurais, mudas com elevado padrão agrônômico e sanitário, a Secretaria de Agricultura e Abastecimento implantou o Sistema de Produção de Mudas Certificadas de Citros no Estado de São Paulo, que determina o uso de ambiente fechado ou telado, onde as mudas devem ser produzidas em recipientes, com substrato e água desinfetados (Panzani et al., 1994). Carvalho (2003) recomenda a produção de mudas certificadas e fiscalizadas em viveiros telados.

A produção da muda cítrica pode ser feita totalmente em recipientes. Na primeira etapa de produção, é comum a semeadura em bandejas ou tubetes. Posteriormente, como opção ao tradicional viveiro de solo, a formação pode ser completada em vasos ou sacos plásticos (Toledo, 1997). Nestes sistemas, pode-se evitar, com maior facilidade, a presença de patógenos pelo isolamento da

sementeira e viveiro e pelo tratamento do substrato e da água de irrigação. Além disso, a utilização desse método apresenta, também, proteção contra contaminações por gomose de *Phytophthora*, nematóides e outros patógenos do solo, além do controle de pragas e doenças da parte aérea (ácaros e leprose), respectivamente, quando produzidos sob telados ou estufas e em mesas a certa altura do chão (Normas, 1999). Entre outras vantagens desse sistema, pode-se destacar o controle ambiental, a melhoria das condições de trabalho para operários e a facilidade de remoção dos porta-enxertos dos recipientes, o que evita o enovelamento das raízes (Vichiato, 1996).

Esse sistema, apesar de requerer um maior investimento inicial, tem sido adotado em larga escala nos últimos anos. A utilização de recipientes com substratos isentos de patógenos, em telados à prova de insetos, são, também, exigências contidas nas Normas para Produção de Muda Fiscalizada de Citros no Estado de São Paulo (Normas, 1999).

2.2. Adubação de porta-enxertos em viveiro

O crescimento de plantas em tubetes pode ser influenciado pelo volume limitado desse recipiente e pela fertilidade do substrato. Essa fertilidade depende dos componentes do substrato que preenche os recipientes (Vichiato, 1996), sendo, normalmente, necessária a complementação da fertilidade natural do substrato (Carvalho e Souza, 1996, Vichiato et al., 1998, Perin et al., 1999, Carvalho et al., 2000, Decarlos Neto et al., 2002, Serrano et al., 2004).

O nitrogênio exerce papel preponderante sobre o crescimento vegetativo das mudas cítricas (Scivittaro et al., 2004a) e desempenha funções no metabolismo das plantas, como parte de proteínas e enzimas, estando diretamente envolvido nos processos da fotossíntese (Carvalho et al., 2000). Com a adubação nitrogenada, o porta-enxerto atinge mais rapidamente o ponto de repicagem (Carvalho, 2001).

O nitrogênio, por ser exigido em quantidade elevada e por influenciar nos principais processos metabólicos da planta, constitui-se em elemento crítico no processo de produção de mudas cítricas. Em razão de sua suscetibilidade a perdas, deve ser disponibilizado às plantas de forma gradual, parcelando-se as aplicações (Carvalho e Souza, 1996, Vichiato et al., 1998).

Para a produção de porta-enxertos cítricos em bandejas ou tubetes, a aplicação de fertilizantes nitrogenados pode variar de uma a duas vezes por semana, dependendo da dosagem e da espécie utilizada (Carvalho, 1994, Carvalho e Souza, 1996).

Carvalho (1994) avaliou o efeito de diferentes doses de nitrato de potássio (KNO_3) no desenvolvimento dos porta-enxertos cítricos 'Cravo' e 'Sunki', cultivados em bandejas e concluiu que a aplicação semanal de KNO_3 até 3 g L^{-1} proporcionou efeito linear no desenvolvimento dos dois porta-enxertos.

Carvalho e Souza (1996) verificaram que a aplicação de KNO_3 em cobertura nas concentrações de $1,5$ a $6,0 \text{ g L}^{-1}$ influenciou positivamente no crescimento da parte aérea e das raízes dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' e tangerineira 'Cleópatra', mas provocou efeitos depressivos no crescimento e na queima de tecidos quando aplicados mais de duas vezes por semana. O máximo crescimento atingido pelas plantas do porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra' foi constatado na dose de $4,5 \text{ g L}^{-1}$ aplicada duas vezes por semana. Ambos os porta-enxertos estavam aptos à repicagem aos 4 meses após a semeadura.

Carvalho et al. (2000) avaliaram os efeitos de três freqüências de aplicação (uma, duas e três vezes por semana) de quatro doses de KNO_3 em cobertura, nos teores de macronutrientes na matéria seca total dos porta-enxertos cítricos limoeiro 'Cravo' e tangerineira 'Cleópatra' e concluíram que o aumento na dose e freqüência de aplicação do KNO_3 proporcionou elevações nos teores de N na matéria seca total das plantas dos dois porta-enxertos avaliados aos 120 dias após a semeadura.

Vichiato et al. (1998) relataram que a aplicação de $0,4 \text{ g de N planta}^{-1}$, utilizando-se como fonte o nitrato de amônio parcelado em três aplicações e associado à dose de $1.280 \text{ mg de P}_2\text{O}_5$ por dm^3 de substrato na forma de superfosfato simples, proporcionou maior crescimento, maior peso da matéria seca total das raízes e da parte aérea e maior precocidade ao porta-enxerto, obtendo-se plantas aptas à repicagem, em média, aos 111 dias após a semeadura. A dose de $0,4 \text{ g de nitrogênio por planta}$ aplicada de forma não parcelada provocou injúrias físicas ao porta-enxerto por seu efeito salinizante e não supriu as necessidades de nitrogênio do porta-enxerto quando cultivado em tubete.

Esposti e Siqueira (2004) avaliaram a influência de cinco doses de nitrogênio aplicadas em cobertura na forma de uréia no crescimento de quatro porta-enxertos de citros cultivados em recipientes. Os resultados mostraram que os limoeiros 'Cravo' e 'Volkameriano' apresentaram as maiores alturas e diâmetro do caule, chegando mais rapidamente ao ponto de enxertia, sendo considerados mais vigorosos que as tangerineiras 'Cleópatra' e 'Sunki' nesse sistema de cultivo. Os limoeiros tiveram menores exigências de nitrogênio que as tangerineiras. As doses de nitrogênio (mg dm^{-3} de substrato) correspondentes às maiores alturas foram 453 para o limoeiro 'Cravo', 431 para o 'Volkameriano', 624 para a tangerineira 'Cleópatra' e 610 para a 'Sunki'.

Scivittaro et al. (2004a) avaliaram o efeito de fontes e de doses de nitrogênio na formação de porta-enxertos de limoeiro 'Cravo' em tubetes, utilizando duas fontes de nitrogênio (nitrato de cálcio e uréia) e quatro doses de nitrogênio e uma testemunha e constataram o efeito positivo das doses de N sobre a altura, diâmetro do caule e produção de matéria seca da parte aérea das mudas do limoeiro 'Cravo'. Scivittaro et al. (2004b) estudaram o efeito de doses de fertilizante de liberação lenta na formação e acumulação de nutrientes pelo porta-enxerto 'Trifoliata' produzido em tubetes e concluíram que a elevação na dose de fertilizante de liberação lenta promoveu aumento no diâmetro do caule, na produção de matéria seca da parte aérea e na acumulação de N, P, K, Mg e B nas plantas de 'Trifoliata', sendo a melhor resposta obtida com a dose de 6 kg m^{-3} .

O fósforo é um elemento mineral que contribui para o crescimento de plantas cítricas tanto em condições de campo como em sementeiras (Vichiato, 1996). Rezende et al. (1995) avaliaram os efeitos do volume de substrato e doses de superfosfato simples (P_2O_5) sobre o diâmetro do caule e a altura das plantas de limoeiro 'Cravo' e concluíram que as plantas apresentaram maior crescimento em altura e diâmetro do caule quando cultivadas em recipientes com o volume de $13,7 \text{ dm}^3$ de substrato e $5.120 \text{ g de } \text{P}_2\text{O}_5 \text{ m}^{-3}$ de substrato. Ainda relataram que a utilização de superfosfato simples proporcionou maior produção de matéria seca total, do peso da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular das plantas de limoeiro 'Cravo' cultivados em vasos (Rezende et al., 1998).

Dentre os macronutrientes, o cálcio é o elemento que as plantas cítricas contêm em maior concentração nas folhas. Os teores totais desse macronutriente superam os de outros nutrientes, incluindo o nitrogênio (Mattos Júnior et al.,

2001). A suplementação com fertilizantes contendo fósforo ao substrato, como o superfosfato simples ou fosfato natural, que fornece indiretamente cálcio, tem efeito comprovado no aumento do desenvolvimento de porta-enxertos em sementeiras de solo e em tubetes (Carvalho, 2001).

Vitória et al. (2002) relataram que as melhores respostas obtidas, na média, para as variáveis diâmetro e peso seco de raiz pela tangerineira 'Cleópatra', foram 4,99 e 5,43 g planta⁻¹ de N e K, respectivamente. Doses excessivas, principalmente de N, influenciam negativamente no diâmetro, no peso seco da parte aérea e da raiz tanto para o porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra' quanto para mudas de laranjeira 'Pêra' enxertadas sobre este porta-enxerto.

O zinco, o manganês e o boro são micronutrientes importantes para a produção de mudas cítricas, cujas deficiências têm sido as mais freqüentes. As tangerineiras 'Cleópatra' e 'Sunki' são mais exigentes em Zn e, portanto, necessitam de aplicações complementares desse nutriente (Mattos Júnior et al., 2001).

2.3. Fungos micorrízicos vesículo-arbusculares na citricultura

Micorrização é o nome dado à associação de raízes de plantas com certos fungos de solo. Esta associação é mutuamente benéfica, a planta hospedeira supre o fungo com açúcares derivados do processo de fotossíntese e, em troca, este aumenta a capacidade da planta em absorver água e vários nutrientes do solo, principalmente fosfato inorgânico (Smith et al., 2003).

A simbiose pode proporcionar vários benefícios à planta hospedeira, como melhor utilização e conservação de nutrientes no sistema, redução de perdas por estresses de natureza biótica (pragas e doenças) ou abiótica (desequilíbrio nutricional e déficit hídrico), aumento da taxa fotossintética (Balota e Kanashiro, 1998), além de permitir a transferência de nutrientes entre plantas (Cruz e Martins, 1997, Rodrigues et al., 2003).

Em função do fósforo ser um nutriente limitante na nutrição das plantas, pelo fato de em algumas situações estar pouco disponível, apresentar baixa mobilidade e estar em baixa concentração no solo (Melloni e Cardoso, 1999), o benefício principal conferido à planta hospedeira pela micorrização é o aumento na absorção e translocação desse nutriente em solos de baixa fertilidade (Mcarthur e Knowles, 1993). Os vegetais em simbiose com os FMAs possuem

taxas transpiratórias mais elevadas, como resultado de uma maior absorção de água por unidade de comprimento de raiz. Como consequência, o fluxo de massa da solução do solo para a superfície radicular é, aproximadamente, duas vezes maior do que o verificado em plantas não micorrizadas, o que pode possibilitar maior absorção de nutrientes, como nitrogênio, enxofre, zinco e cobre (Marschner e Dell, 1994). Estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de investigar o papel dos FMAs em situações de cultivo das plantas em condições de seca, promovendo maior absorção de água e conseqüente tolerância ao estresse hídrico (Goicoechea et al., 1997, Ruiz-Louzano et al., 1995, Augé, 2001, Caravaca et al., 2003, Marulanda et al., 2003, Ruiz-Louzano, 2003, Kaya et al., 2003, Wu e Xia, 2006).

Segundo Ramos (2005), as espécies que só crescem na presença da simbiose micorrízica são chamadas micotróficas obrigatórias e as plantas que crescem em solos pobres em nutrientes e são favorecidas pelos fungos são conhecidas como micotróficas facultativas. O sistema radicular dos citros é muito dependente dos fungos micorrízicos para seu desenvolvimento e nutrição na fase de mudas (Balota e Kanashiro, 1998). A utilização de FMAs na cultura dos citros é devida à sua capacidade de associar-se com as radículas dos porta-enxertos, influenciando o desenvolvimento da planta cítrica. Os FMAs formam grande quantidade de hifas intra e extra-radulares, vesículas e arbúsculos intraradulares, importantes para aumentar a capacidade de absorção de nutrientes pela planta cítrica, especialmente aqueles que se movimentam por difusão, como o fósforo, o cobre e o zinco. O incremento na absorção de nutrientes deve-se às hifas fúngicas que funcionam como extensões das raízes, capazes de explorar maior volume de solo (Sieverding, 1991).

Johnson e Hummel (1985), avaliando raízes de mudas de citrange 'Carrizo' inoculadas com FMAs da espécie *Glomus intraradices*, relataram que a inoculação proporcionou melhor estabelecimento das plantas de citros em situações de transplante, melhorando a absorção de fósforo e reduzindo o estresse das plantas. As plantas inoculadas com FMA apresentaram maior transpiração que as não-inoculadas.

A inoculação de FMA em mudas de porta-enxertos de citros em substrato esterilizado reduziu a quantidade de adubação fosfatada quando comparada à produção de mudas não-micorrizadas. Os FMA afetaram significativamente o

desenvolvimento de porta-enxertos de citros nos primeiros meses de crescimento, tendo causado incrementos na altura e na produção de matéria seca da parte aérea da planta, obtendo-se plantas em ponto de enxertia oito meses após a semeadura. A tangerineira 'Cleópatra' foi a espécie cítrica mais favorecida pelo FMA *Glomus macrocarpum* (Cardoso et al., 1986). Weber et al. (1990), avaliando a inoculação com *Glomus etunicatum* em plantas de limoeiro 'Cravo', observaram aumentos na altura, na produção de matéria seca da parte aérea, na produção de matéria fresca do sistema radicular e no conteúdo de fósforo da parte aérea das plantas. Plantas de tangerineira 'Cleópatra' inoculadas com *Glomus etunicatum* em substrato estéril apresentaram aumentos na produção da matéria seca e maior acúmulo de nutrientes na parte aérea das plantas, resultando em mudas mais vigorosas e precoces (Cardoso e Lambais, 1993).

Fonseca et al. (1994), avaliando os efeitos do fósforo e de FMA sobre a nutrição de porta-enxertos até a fase de enxertia, relataram que as doses crescentes de fosfato proporcionaram menores teores de cobre, zinco e potássio na matéria seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra' inoculada com *Glomus clarum*, entretanto os teores de enxofre foram superiores na matéria seca da parte aérea das plantas. A inoculação de FMA não influenciou os teores de micronutrientes na matéria seca do porta-enxerto de citros. Sena et al. (2004) relataram que, em baixas doses de fósforo, as plantas micorrizadas apresentaram maior altura e maior produção de matéria seca da parte aérea, entretanto, altas doses de fósforo reduziram o crescimento, a transpiração, a resistência estomática, a área foliar e a matéria seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra'.

Os FMAs apresentam certa especificidade com relação às variedades de porta-enxerto cujas raízes colonizam, alguns deles resultando em associações mais eficientes que outros para uma determinada variedade (Lima, 1986). Segundo Cardoso et al. (1986), a compatibilização entre porta-enxerto, a espécie de FMA e a quantidade de insumos, especialmente os adubos fosfatados, definirão o tipo de resposta à micorrização. Em decorrência da cultura dos citros passar pela fase de viveiro, torna-se viável a utilização prática das associações micorrízicas, uma vez que, em pequenas áreas, com reduzida quantidade de inóculo, grande número de plantas podem ser inoculadas.

Oliveira et al. (1992), estudando a eficiência de dois tipos de inóculos de FMA sobre o estabelecimento da associação e o crescimento de porta-enxertos de citros, observaram que o inóculo constituído de solo, esporos, micélio e raízes colonizadas por fungos micorrízicos teve efeito mais significativo sobre a taxa de colonização micorrízica e o crescimento dos porta-enxertos de citros que a inoculação com a suspensão de esporos. A altura das plantas dos porta-enxertos limoeiro 'Cravo' e 'Rugoso da Flórida' foi maior em todos os tratamentos com o inóculo composto de solo, raízes e esporos, especialmente em associação com *Glomus etunicatum*.

A inoculação com FMA promoveu aumentos significativos na altura e na matéria seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra' e permitiu um ganho médio de 16% em altura das plantas, que atingiram mais rapidamente o ponto de repicagem (Rocha et al., 1994). Souza et al. (1997), avaliando a influência do fungo micorrízico *Glomus intraradices* sobre o desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto citrange 'Troyer', observaram incremento no desenvolvimento das mudas inoculadas em comparação com as que não receberam o inóculo do fungo micorrízico, e que a inoculação proporcionou mudas com maior diâmetro, o que poderia ser um indicativo para antecipação da época de enxertia, independente do substrato de cultivo utilizado.

Souza et al. (2005), avaliando o efeito do substrato e da inoculação de duas espécies de FMA sobre o crescimento vegetativo do porta-enxerto 'Flying dragon' (*Poncirus trifoliata*, var. *monstruosa* Swing), concluíram que a espécie mais eficiente sobre o crescimento vegetativo do 'Flying dragon' foi a *Acaulospora scrobiculata* e a eficiência da simbiose ocorreu apenas no substrato contendo solo e areia, mais pobre nutricionalmente, comparativamente ao substrato que recebeu adição de resíduo decomposto de casca de acácia-negra.

Pereira et al. (2006), avaliando o efeito da inoculação do fungo micorrízico vesículo-arbuscular *Acaulospora scrobiculata* em plantas de tangerineira 'Sunki' fertilizada com diferentes doses de um fertilizante de liberação controlada, formulação 17-07-12 (N-P-K), concluíram que as plantas inoculadas apresentaram incrementos na massa seca do caule, das folhas e das raízes e que o efeito benéfico da micorrização sobre o incremento em diâmetro foi observado até a dose de 15 g do adubo planta⁻¹.

2.4. Brassinosteróides

Os brassinosteróides são conhecidos como uma nova classe de hormônios de plantas, que estão distribuídos no reino vegetal e exercem efeitos fisiológicos em plantas em baixas concentrações (Khripach et al., 2000). Os brassinosteróides são compostos derivados do esteróide vegetal campesterol, sendo, atualmente, conhecidos mais de 60 brassinosteróides diferentes. No processo de biossíntese, o campesterol é reduzido inicialmente a campestenol, e este é oxidado a castasterona e a teasterona, precursores do brassinolídeo (Colli, 2004). Sabe-se que os brassinosteróides são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Yokota, 1997, Fujioka e Yokota, 2003).

Entre os tecidos vegetais, os tecidos jovens em crescimento possuem conteúdos superiores de brassinosteróide em comparação aos tecidos velhos (Takatsuto, 1994). Shimada et al. (2003) relataram que o principal local da síntese de brassinosteróide está localizado nos órgãos em desenvolvimento, como nas regiões meristemáticas.

Cortes et al (2003) relataram que os brassinosteróides são encontrados naturalmente nas plantas em baixas concentrações. Assim, foram sintetizados os análogos de brassinosteróides para possível uso comercial. Dois destes análogos de brassinosteróides são os Biobras-6 (BB-6) e o Biobras-16 (BB-16).

As respostas dos brassinosteróides incluem efeitos sobre a divisão de células (Sasse, 1997, Clouse e Sasse, 1998), alongamento celular (Szekeres et al., 1996, Azpiroz et al., 1998, Clouse e Sasse, 1998), crescimento das plantas, incluindo expansão foliar (Orika Ono et al., 2000), ativação de bombas de prótons (Müssig e Altmann, 1999) e inibição de raízes (Roddick et al., 1993, Colli, 2004).

Os brassinosteróides participam de processos de tolerância das plantas a diversos tipos de estresses como, temperaturas extremas, seca, salinidade e ataque de patógenos (Khripach et al., 2000, Krishna, 2003), podendo afetar o desenvolvimento de insetos e fungos (Sasse, 1997).

Krishna (2003) relatou que o brassinosteróide (24-epibrassinolídeo) afeta a expressão de sintomas de doença em plantas de tomate inoculadas com *Verticillium dahliae*. As raízes inoculadas com este patógeno e crescidas por 14 dias em presença de epi-brassinolídeo não demonstraram sintomas ou estes foram de pequena intensidade. Por outro lado, as plantas não tratadas com epi-

brassinolídeo apresentaram moderado ou severo sintoma característico do processo de infecção deste fungo. A exposição das plântulas por curto espaço de tempo ao epi-brassinolídeo, antes da inoculação de *Verticillium dahliae*, não reduziu os sintomas da doença, o que demonstra que o epi-brassinolídeo só foi efetivo quando o patógeno já estava presente nos tecidos da planta.

Nakashita et al. (2003) relataram que plantas de arroz expostas a *Magnaporthe grisea* e *Xanthomonas oryzae* e plantas de tabaco submetidas a *Pseudomonas syringae* e *Oidium* sp. mostraram-se resistentes a estes patógenos em função da aplicação inicial de brassinolídeo.

Özdemir et al. (2004), avaliando os efeitos de 24-epibrassinolídeo na germinação de sementes e crescimento de mudas de arroz sob estresse salino (NaCl), concluíram que as mudas de arroz que receberam aplicação do análogo do brassinosteróide (24-epibrassinolídeo) foram menos afetadas pelo estresse salino em comparação com as plantas pertencentes ao tratamento sem aplicação de 24-epibrassinolídeo, em virtude da indução de enzimas antioxidantes.

Em plantas de pepino tratadas com brassinosteróide, foi verificada resistência das plantas à seca (Pustovoitova et al., 2001). Segundo Dhaubhadel et al. (1999), mudas de tomate e de canola (*Brassica napus*) crescidas na presença de 24-epibrassinolídeo foram significativamente mais tolerantes a temperaturas elevadas do que as plantas controle. Dhaubhadel et al. (2002) relataram que os brassinosteróides atuam na proteção de plantas contra altas temperaturas. A aplicação de 24-epibrassinolídeo promoveu aumento na termoregulação em plântulas de canola, pelo aumento da síntese de proteínas termoreguladoras.

Anuradha e Rao (2001) relataram que a ativação do crescimento de mudas de arroz em condição de salinidade está associada com o aumento nos níveis de ácidos nucleicos e proteínas solúveis. A aplicação de brassinosteróides em sementes de arroz resultou em decréscimo da atividade inibitória do estresse salino no crescimento das plantas (Anuradha e Rao, 2003).

Sugiyama e Kuraishi (1989) relataram que a aplicação de brassinolídeo aumentou a fixação dos frutos da laranja 'Morita Navel' nas plantas. Em laranja, a aplicação de brassinolídeo durante a floração aumentou o pegamento de frutos, enquanto que, aplicado durante o crescimento dos frutos, diminuiu sua queda

fisiológica, ocasionando um aumento do número de frutos por planta e aumento do peso médio dos frutos (Zullo e Adam, 2002).

Vásquez e Rodríguez (2000) relataram que a composição das membranas é um fator importante que afeta o comportamento das plantas em condições de estresse. Assim, é interessante encontrar a possível relação existente entre a maior tolerância das plantas ao estresse, estimulada pelos brassinosteróides e as modificações na composição química das membranas. Em condições de estresse, foi observada uma influência positiva no conteúdo relativo de água nas folhas, apesar do incremento na velocidade de transpiração e na diminuição na resistência da difusão, o que sugere um incremento no consumo de água pelas plantas. Segundo Morillon et al. (2001), os brassinosteróides estão envolvidos no transporte de água através das membranas celulares, podendo controlar a atividade das aquaporinas (controle do fluxo de água nas plantas) presentes na membrana plasmática e, assim, aumentar a permeabilidade à água.

Tominaga e Sakurai (1996) demonstraram que o brassinolídeo causou crescimento e alongamento em segmentos de hipocótilo de abóbora (*Cucurbita maxima*), por alteração das propriedades dos tecidos internos e externos da parede celular. A aplicação de brassinolídeo estimulou o crescimento do pecíolo das plantas de *Tabebuia Alba* (Orika Onu et al., 2000).

González-Olmedo et al. (2005), com o objetivo de avaliarem o efeito da aplicação de um análogo de brassinosteróide ($C_{27}O_6H_{42}$) em mudas de banana FHIA-18 submetidas a estresse térmico durante a fase de aclimação, concluíram que, nas plantas tratadas com o análogo de brassinosteróide, os efeitos do estresse térmico foram significativamente reduzidos.

Em relação à maior tolerância das plantas a diversos tipos de estresses, tem-se verificado efeito benéfico do análogo de brassinosteróide, Biobras-16. O análogo espirostânico da castasterona, Biobras-16, promoveu tolerância em plantas de arroz cultivadas em condições de estresses térmico e salino, em função do aumento da síntese de proteínas termoreguladoras e da atividade de enzimas antioxidantes, respectivamente (Núñez et al., 2003/4). Huerta et al. (2001) estudaram os efeitos dos análogos de brassinosteróides, Biobras-6 e 16 sobre o rendimento de grãos em plantas de arroz cultivadas em condições de salinidade e concluíram que as plantas tratadas com o Biobras-6 e 16 apresentaram maior rendimento de grãos por panícula, resultando em maior rendimento econômico.

Díaz et al. (2003), avaliando os efeitos do Biobras-16, no rendimento de arroz, concluíram que a aplicação de Biobras-16 promoveu uma resposta positiva no rendimento de arroz por área, independente das doses e tempos de aplicações utilizadas.

Labrada et al. (2005) avaliaram o efeito de diferentes doses do Biobras-16 sobre alguns parâmetros fisiológicos e no rendimento agrícola das variedades de cana-de-açúcar, C 85-403 e C 1051-73 aos seis meses após o plantio e observaram uma resposta positiva do Biobras-16 no comprimento do caule das plantas. De todos os parâmetros fisiológicos estudados, foram observados que os melhores resultados para o número de folhas, tamanho de folhas e número de entrenós foram obtidos com as doses de 40 e 100 mL ha⁻¹.

O análogo espirosteróide da castasterona (25R)-2 α ,3 α -epoxi-5 α -hidroxiespirostan-6-ona mostrou acentuada atividade promotora de crescimento vegetal no bioensaio de alongação do hipocótilo e expansão do cotilédono de rabanete (Rodríguez et al., 2003).

Os análogos de brassinosteróide (24-epibrassinolídeo e análogo polihidroxilado espirosteróide) também estão envolvidos nos processos de tolerância das plantas a estresses, pois conferiram proteção de plantas de tomate submetidas a condições de alta temperatura pela indução de enzimas antioxidantes (Mazorra et al., 2002).

Os brassinosteróides podem interagir com outros reguladores de crescimento vegetal endógenos (Vásquez e Rodríguez, 2000), como o ácido abscísico (Ábrahám et al., 2003), o etileno (Müssig et al., 2003) e o jasmonato (Schaller et al., 2000). A interação de brassinosteróides com auxina produz efeito sinérgico, com ácido abscísico apresenta antagonismo e com giberelina apresenta aditividade (Ephritikhine et al., 1999).

Os brassinosteróides podem ser misturados a diluentes sólidos (talco, mica, barro), pastosos (lanolina) ou líquidos (normalmente água ou misturas hidroalcoólicas) para serem utilizados como pós, peletes, tabletes, pastas, suspensões, soluções na presença ou não de emulsificantes que auxiliem a homogeneização da preparação. A aplicação pode ser feita por aspersão, espalhamento, cobertura ou deposição sobre a planta ou seus órgãos (folhas, flores, caules, frutos, sementes) ou sobre o solo. A quantidade de brassinosteróide a ser aplicada depende do brassinosteróide, da preparação

utilizada e sua forma e frequência de aplicação, do tipo de planta a ser tratada e do efeito desejado (Zullo e Adam, 2002).

Vázquez e Rodríguez (2000) relataram que, de maneira geral, as doses mais adequadas dos brassinosteróides têm oscilado entre 0,1 e 1 mg L⁻¹, ou seja, entre 10 mg ha⁻¹ e 100 mg ha⁻¹, evidenciando a efetividade das formulações como estimuladores de rendimento em diferentes cultivos, o que abre novas perspectivas para a agricultura.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos, o primeiro da semeadura (julho de 2005) até o ponto de repicagem (novembro de 2005) e o segundo do ponto de repicagem (novembro de 2005) até os 130 dias após a repicagem (março de 2006). Os experimentos foram realizados em casa de vegetação localizada na área experimental da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes, região norte do Estado do Rio de Janeiro.

Foi utilizado no estudo o porta-enxerto cítrico tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort. ex Tanaka), cujas sementes foram adquiridas no Centro APTA Citrus Sylvio Moreira - IAC - Cordeirópolis - SP.

3.1. Experimento 1

3.1.1. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 X 2, avaliando-se 5 concentrações de um análogo de brassinosteróide, Biobras-16 (0,0; 0,1; 0,5; 0,75 e 1,00 mg L⁻¹) na presença e na ausência da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*, com 4 repetições, totalizando 40 parcelas. Cada parcela experimental foi composta por 48 plantas, das quais 12 foram consideradas úteis.

3.1.2. Obtenção e multiplicação do inóculo do fungo micorrízico

O fungo micorrízico (*Acaulospora scrobiculata*) utilizado no experimento foi proveniente do banco de inóculos do Laboratório de Solos da UENF. A produção do inóculo do FMA foi realizada segundo metodologias descritas por Rodrigues (2001), com algumas modificações. Para a multiplicação do inóculo do FMA, foram utilizados vasos de 6 L, contendo como substrato uma mistura de solo e areia na proporção 1:2 (v:v) previamente esterilizado por autoclavagem por duas vezes, à temperatura de 120°C, por uma hora. A planta hospedeira utilizada para a multiplicação do inóculo foi a braquiária (*Brachiaria brizantha*). A superfície das sementes de braquiária foram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 15 minutos. Posteriormente, as sementes foram lavadas com água esterilizada. Foram semeadas seis sementes de braquiária por vaso, já contendo o substrato e o inóculo. As sementes de braquiária foram irrigadas diariamente por dois meses. Após dois meses de plantio da braquiária, a parte aérea foi cortada e descartada. Em seguida, os vasos foram cobertos com folhas de jornal para evitar contaminação e foram mantidos cobertos por um período de um mês, em local seco, para estimular a esporulação do FMA. As raízes da braquiária foram cortadas em pedaços de cerca de dois centímetros e misturadas ao seu substrato de cultivo. Esta mistura de solo com raízes colonizadas, esporos e hifas do fungo foi utilizada como inóculo do FMA.

3.1.3. Tratamento da semente, recipiente utilizado e semeadura

Até o início do experimento, as sementes do porta-enxerto foram armazenadas em geladeira à temperatura de 5°C. Um dia antes da semeadura, as sementes sofreram um tratamento por imersão, para a remoção do tegumento, em solução aquosa contendo hidróxido de sódio (10 g L⁻¹), hipoclorito de sódio 2% (150 mL L⁻¹) e ácido clorídrico 12 N (2 mL L⁻¹), sendo a mistura agitada cuidadosamente, a cada 15 minutos, por um período de 45 minutos. Em seguida, as sementes foram lavadas em água corrente e descascadas manualmente.

Foi utilizado no experimento um substrato comercial da marca Plantmax Hortaliças[®], composto por uma mistura de cascas processadas, vermiculita e turfa processada e enriquecida, cuja composição química está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química* da amostra do substrato (Plantmax Hortaliças®)

N	P	K	Ca	Mg	C	S	Cl	pH	U	Fe	Cu	Zn	Mn	B
----- g kg ⁻¹ -----									%	----- mg kg ⁻¹ -----				
8,85	4,92	5,42	14,60	21,60	314,40	3,29	5,00	4,7	47,7	17220	28	84	235	18,37

Análises realizadas na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Leonel Miranda.

*Teores totais dos nutrientes, determinados após digestão úmida da matéria seca.

A semeadura foi efetuada em tubetes de polietileno, preto rígido, de modelo cônico, com seção circular, contendo seis frisos internos longitudinais e equidistantes que proporcionam o direcionamento das raízes para o orifício basal, com capacidade para 50 cm³ de substrato. Foram utilizadas no experimento 20 bandejas, cada uma contendo 96 tubetes.

Foram semeadas duas sementes por tubete e, aos 32 dias após a semeadura, foi realizado o desbaste e a seleção para eliminação de plantas atípicas e de pequeno desenvolvimento, deixando uma plântula por tubete.

3.1.4. Aplicação dos tratamentos

Sobre o substrato foi adicionado o inóculo do FMA correspondendo a 2,5% do volume do tubete. Inicialmente fez-se o enchimento dos tubetes com o substrato de cultivo até a 1 cm das suas superfícies superiores. A seguir, foram colocadas as sementes para germinar, as quais foram cobertas por 1 cm de espessura do mesmo substrato.

O regulador de crescimento utilizado no experimento foi o Biobras-16 (BB-16) análogo espirostânico da castasterona - (25R)-2 α ,3 α -dihidroxi-5 α -espirostan-6-ona.

A primeira aplicação do BB-16 foi realizada aos 40 dias após a semeadura e repetida a cada 15 dias, totalizando seis aplicações de 200 mL para as respectivas concentrações.

Foram utilizados borrifadores manuais para as aplicações das diferentes concentrações do BB-16 nas plantas. Para cada concentração, foram preparados 200 mL de solução para a aplicação em 96 plantas. Para a aplicação do BB-16, as plantas pertencentes ao mesmo tratamento foram colocadas em bandejas

previamente identificadas e estas foram isoladas e tratadas na antecâmara da casa de vegetação, para evitar o contato das demais plantas com o BB-16 no momento da aplicação. Todas as aplicações foram realizadas à tarde, após as 17:00 horas.

3.1.5. Manejo experimental

As bandejas foram dispostas sobre uma bancada composta por fios de arame esticados a 1 m do solo. O posicionamento das bandejas na bancada foi determinado por sorteio dentro de cada bloco.

Durante o período de desenvolvimento, as plantas foram irrigadas manualmente duas vezes ao dia com o auxílio de um regador de crivo fino na extremidade.

Foram efetuadas oito adubações em cobertura com nitrato de potássio (KNO_3), na concentração de 4,5 g de KNO_3 por litro de água para cada bandeja, aplicadas duas vezes por semana. A primeira aplicação do KNO_3 foi realizada aos 60 dias após a semeadura. A aplicação da adubação foi realizada com um regador com crivo fino na extremidade.

Foram realizadas quatro adubações com micronutrientes por meio de pulverizações foliares, utilizando-se uma solução de sulfato de cobre ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), ácido bórico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), sulfato de magnésio (4 g L^{-1}), sulfato de zinco ($1,75 \text{ g L}^{-1}$), sulfato de manganês ($1,25 \text{ g L}^{-1}$), uréia ($2,5 \text{ g L}^{-1}$) e molibdato de sódio ($0,2 \text{ g L}^{-1}$). As pulverizações foliares foram realizadas com borrifadores manuais.

Pulverizações periódicas foram realizadas durante a condução do experimento para controle de pragas como lagartas, mosca branca e lagarta minadora dos citros (*Phyllocnistis citrella*). Os inseticidas utilizados para o controle da lagarta minadora foram o Abamectin (Vertimec[®]) pulverizado sobre as plantas e o Imidacloprid (Winner[®]) via caule. Para o controle dos demais insetos, utilizou-se o Deltamethrin (Decis[®] 25 CE).

3.1.6. Avaliações biométricas

As avaliações das plantas foram iniciadas em agosto de 2005, sendo realizadas a cada 20 dias até 140 dias após a semeadura, medindo-se o diâmetro do caule, altura da planta e número de folhas. A altura das plantas foi medida do colo até a extremidade da gema apical, com o uso de uma régua milimetrada com

precisão de 1 mm. O diâmetro do caule foi medido com paquímetro digital a 1,5 cm de altura do colo da planta e o número de folhas foi obtido pela contagem geral de todas as folhas presentes.

Aos 140 dias após a semeadura, seccionou-se a parte aérea das plantas rente ao colo. Em seguida, avaliou-se a área foliar, utilizando-se o medidor foliar Model aparelho LI-3100 area meter[®], no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da UENF. As raízes foram coletadas e lavadas para remoção de resíduos do substrato. Posteriormente, as folhas, caules e raízes, de cada repetição, de cada tratamento, foram acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 72°C, durante 72 horas, sendo posteriormente quantificados a massa seca das folhas, do caule e do sistema radicular com o auxílio de uma balança analítica de precisão.

3.1.7. Análise de nutrientes das folhas e caules

Após a secagem, as folhas e os caules foram triturados, separadamente, em moinho tipo Wiley, com peneira de 20 *mesh* e armazenadas em frascos hermeticamente fechados. Posteriormente, foram submetidos a análises químicas para determinação dos teores de nitrogênio (N-NH₄⁺), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn) no setor de Nutrição Mineral de Plantas do Laboratório de Fitotecnia da UENF. As análises foram realizadas de acordo com metodologias descritas por Malavolta et al. (1997).

O N foi determinado pelo método de Nessler, após submeter o material vegetal à oxidação pela digestão sulfúrica (H₂SO₄ e H₂O₂). O P foi determinado colorimetricamente pelo método do molibdato e o K foi determinado por espectrofotometria de emissão de chama, ambos determinados no extrato obtido a partir da digestão sulfúrica. Os elementos Ca, Mg, Fe, Zn e Mn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica determinados no extrato obtido a partir da oxidação do material vegetal pela digestão nítrico-perclórica (HNO₃ e HClO₄). O S, utilizando-se também o extrato proveniente da digestão nítrico-perclórica foi determinado por turbidimetria do sulfato.

Os resultados dos nutrientes minerais na massa seca das folhas e dos caules foram expressos em termos de conteúdo.

3.1.8. Análise dos dados experimentais

As médias do diâmetro do caule, da altura das plantas, do número de folhas, da área foliar, da massa seca das folhas, do caule e do sistema radicular, bem como os conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn e Mn nas folhas e no caule foram submetidos a análises de variância. Quando o teste F foi significativo, as médias dos tratamentos do brassinosteróide foram comparadas pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade. Já as médias dos tratamentos com e sem inoculação com *Acaulospora scrobiculata* foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Para as épocas de avaliação, os dados foram avaliados em esquema de parcelas subdivididas no tempo e foram submetidos a análises de regressão polinomial.

3.2. Experimento 2

3.2.1. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 X 2, avaliando-se 5 concentrações de um análogo de brassinosteróide, Biobras-16 (0,0; 0,15; 0,3; 0,45 e 0,6 mg L⁻¹) na presença e ausência da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*, com 4 repetições, totalizando 40 parcelas. Cada parcela experimental foi composta por duas plantas.

3.2.2. Recipiente utilizado

As mudas foram obtidas conforme descrito nos itens 3.1.2., 3.1.3. e a inoculação conforme descrito no item 3.1.4., sendo que o experimento 2 foi iniciado após o término do experimento 1, utilizando-se plantas com 120 dias após a semeadura e uniformes. Foram selecionadas plantas com altura entre 14 e 23 cm, inoculadas e não inoculadas com *Acaulospora scrobiculata*.

As plantas selecionadas foram repicadas dos tubetes para citovasos, onde permaneceram até a formação final da muda. Os citovasos são recipientes de plástico cônicos, semelhantes a tubetes em forma, com capacidade de 3,8 dm³, contendo oito estrias longitudinais internas que direcionam as raízes para o fundo evitando enovelamentos.

A primeira aplicação do BB-16 foi realizada aos 12 dias após a repicagem e repetida a cada 20 dias, totalizando seis aplicações de 200 mL para as respectivas concentrações.

Foram utilizados borrifadores manuais para as aplicações das diferentes concentrações do BB-16 nas plantas. Para cada concentração, foram preparados 200 mL de solução para a aplicação em 16 plantas. Para a aplicação do BB-16, as plantas pertencentes ao mesmo tratamento foram isoladas em diferentes locais dentro da casa de vegetação, para evitar contaminação das plantas no momento da aplicação. Todas as aplicações foram realizadas à tarde, após as 17:00 horas.

3.2.3. Manejo experimental

No momento da repicagem, o substrato (Plantmax Hortaliças[®]) recebeu uma adubação com o fertilizante de liberação lenta Osmocote[®], na formulação 22-4-8 (N-P-K), contendo micronutrientes, com liberação total entre 8 e 9 meses à temperatura de 21,1°C. O fertilizante de liberação lenta foi misturado e homogeneizado ao substrato no momento de enchimento dos citrovasos, na dosagem de 10 g por citrovaso, fornecendo 578 g m⁻³ de N, 105 g m⁻³ de P₂O₅ e 210 g m⁻³ de K₂O.

Os citrovasos foram dispostos sobre uma bancada de madeira a 1 m de altura do solo. O posicionamento dos citrovasos na bancada foi determinado por sorteio dentro de cada bloco.

Os tratos culturais, como manejo de irrigação e controle de pragas, foram realizados conforme no experimento 1. As plantas foram tutoradas com varas de bambu aos dois meses após a repicagem.

Foram realizadas duas adubações com micronutrientes, sendo uma em dezembro de 2005 e a outra em janeiro de 2006, por meio de pulverizações foliares, com uma solução de sulfato de cobre (0,5 g L⁻¹), ácido bórico (0,5 g L⁻¹), sulfato de magnésio (4 g L⁻¹), sulfato de zinco (1,75 g L⁻¹), sulfato de manganês (1,25 g L⁻¹), uréia (2,5 g L⁻¹) e molibdato de sódio (0,2 g L⁻¹). Utilizou-se 1 litro de solução para pulverizar 80 plantas. As pulverizações foliares foram realizadas com borrifadores manuais.

Realizou-se, também, uma aplicação com KNO₃ (5 g L⁻¹) aos 34 dias após a repicagem, utilizando-se 100 mL por planta.

3.2.4. Avaliações biométricas

A primeira avaliação de crescimento (altura, número de folhas e diâmetro do caule) foi realizada no momento da repicagem, no início do experimento, sendo as outras avaliações efetuadas a cada 20 dias.

A altura das plantas foi medida a partir do colo até a extremidade da gema apical. O diâmetro do caule foi medido a 1,5 cm do colo da planta, utilizando-se um paquímetro digital.

As plantas foram colhidas aos 130 dias após a repicagem. No momento da colheita do experimento, as plantas foram avaliadas quanto à área foliar, utilizando-se o medidor foliar Model aparelho LI-3100 area meter[®], no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da UENF.

As raízes foram coletadas e lavadas para remoção de resíduos do substrato. Para a avaliação da porcentagem de colonização micorrízica, foram retiradas amostras de raízes da tangerineira 'Cleópatra' e acondicionadas imersas em álcool etílico 50%. Posteriormente, foram clarificadas em KOH 2,5% à temperatura de 80°C por um período de 5 minutos. A avaliação da colonização micorrízica foi realizada utilizando-se dez segmentos de raízes de, aproximadamente, 2 cm. As raízes foram dispostas em lâminas e avaliadas com o auxílio de um microscópio, após a coloração com azul de metil (Grace e Stribley, 1991)

As folhas, os caules e as raízes foram acondicionados em sacos de papel e foram colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 72°C, durante 72 horas, sendo, posteriormente, quantificados a massa seca das folhas, do caule e do sistema radicular em balança digital.

3.2.5. Análise de nutrientes das folhas

Após a secagem, as folhas de cada repetição, de cada tratamento, foram trituradas em moinho tipo Wiley, com peneira de 20 *mesh* e armazenadas em frascos de plástico hermeticamente fechados. Posteriormente, foram submetidas a análises químicas para determinação dos teores de nitrogênio (N-NH₄⁺), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn) no setor de Nutrição Mineral de Plantas do Laboratório de Fitotecnia da UENF, de acordo com metodologias propostas por Malavolta et al. (1997).

O teor de N foi determinado pelo método de Nessler, o teor de P foi quantificado colorimetricamente pelo método do molibdato e o teor de K foi determinado por espectrofotometria de emissão de chama, após submeter o material vegetal à oxidação pela digestão sulfúrica. Para determinação dos demais nutrientes, a matéria seca foi submetida à digestão nítrico-perclórica. Os teores de Ca, Mg, Fe, Mn e Zn foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica e o S foi determinado por turbidimetria do sulfato.

Os resultados dos nutrientes minerais na massa seca das folhas foram expressos em termos de teores e conteúdo.

3.2.6. Análise dos dados experimentais

As médias do diâmetro do caule, da altura das plantas, do número de folhas, da área foliar, da massa seca das folhas, do caule e do sistema radicular, assim como os conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn e Mn nas folhas, foram submetidos a análises de variância. Quando o teste F foi significativo, as médias dos tratamentos do brassinosteróide foram comparadas, pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade. Já as médias dos tratamentos com e sem inoculação com *Acaulospora scrobiculata* foram comparadas, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Para as épocas de avaliação, os dados foram avaliados em esquema de parcelas subdivididas no tempo e foram submetidos a análises de regressão polinomial.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento 1

4.1.1. Crescimento da tangerineira 'Cleópatra' da semeadura ao ponto de repicagem

O FMA promoveu aumento na altura e no número de folhas da tangerineira 'Cleópatra' (Tabela 2).

Tabela 2. Altura e número de folhas da tangerineira 'Cleópatra' englobando todas as épocas de avaliação em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

Inoculação com FMA	Altura (cm)	Número de folhas
Com	10,1 a	12,6 a
Sem	9,70 b	12,2 b
CV (%)	5,07	2,85

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

As curvas de crescimento do porta-enxerto dos 50 aos 140 dias após a semeadura (d.a.s.) estão apresentadas nas Figuras 1, 2 e 3.

A tangerineira 'Cleópatra' apresentou a altura mínima estimada, requerida para a repicagem (10 cm de altura), aos 102 d.a.s. para as plantas inoculadas com o FMA e aos 104 d.a.s. para as não-inoculadas (Figura 1). Segundo Carvalho (2001), os porta-enxertos cítricos estão aptos a serem transplantados para recipientes maiores, onde será completada a formação da muda após atingir entre 10 e 15 cm de altura, por volta de 3 a 5 meses da semeadura, dependendo da variedade e condições de cultivo.

Analisando a Figura 3, pode-se observar que, a partir dos 70 d.a.s., as diferenças do diâmetro do caule foram significativas entre as plantas inoculadas e as não-inoculadas com o FMA. As plantas inoculadas com o FMA apresentaram diâmetro do caule superior ao das plantas não-inoculadas. Aos 140 d.a.s., as plantas inoculadas apresentaram diâmetro do caule equivalente a 2,83 mm e as plantas não-inoculadas apresentaram diâmetro do caule igual a 2,73 mm ($p=0,05$).

A partir dos 130 d.a.s., as concentrações de 0,1, 0,5 e 1,00 mg L⁻¹ diferiram da testemunha, por outro lado, a concentração de 0,75 mg L⁻¹ não diferiu da testemunha pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade (Figura 4).

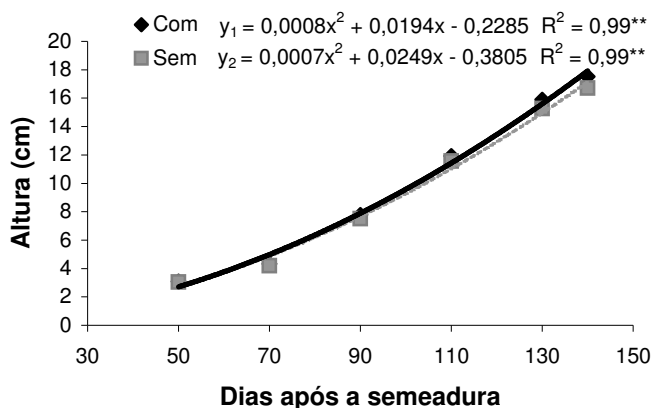


Figura 1. Altura da tangerineira 'Cleópatra' inoculada e não-inoculada com *Acaulospora scrobiculata* nas diferentes épocas de avaliação.

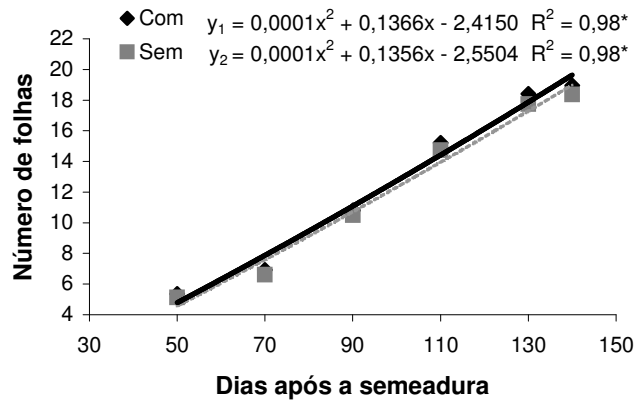


Figura 2. Número de folhas da tangerineira 'Cleópatra' inoculada e não-inoculada com *Acaulospora scrobiculata* nas diferentes épocas de avaliação.

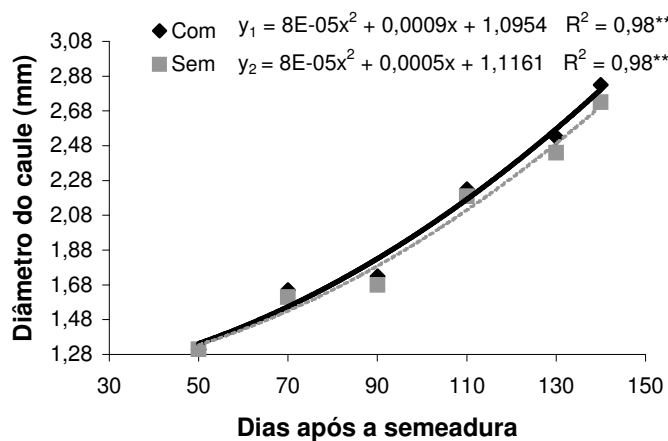


Figura 3. Diâmetro do caule (medido a 1,5 cm do colo da planta) da tangerineira 'Cleópatra' inoculada e não-inoculada com *Acaulospora scrobiculata* nas diferentes épocas de avaliação.

Rocha et al. (1994), avaliando o efeito de três fungos micorrízicos, *Acaulospora morrowae*, *Glomus etunicatum* e *Glomus clarum*, sobre o crescimento da tangerineira 'Cleópatra', verificaram que as plantas inoculadas com os FMAs apresentaram maior crescimento em altura em relação às plantas não-inoculadas. Segundo os mesmos autores, a inoculação com FMAs permitiu um ganho médio de 16% em altura das plantas, sendo que as plantas inoculadas

atingiram altura média de 12,0 cm aos 120 d.a.s., atingindo mais rapidamente o ponto de repicagem.

Vichiato et al. (1998), trabalhando com o porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra' cultivado em tubetes, sob condições de casa de vegetação, relataram que as plantas atingiram o ponto de repicagem em média aos 111 d.a.s., permitindo a suposição de que, com correto manejo da adubação nitrogenada, pode-se obter porta-enxerto desta espécie aptos à repicagem em curto espaço de tempo. Jabur e Martins (2002) obtiveram plantas de tangerineira 'Cleópatra' com altura apta à repicagem, também aos 111 d.a.s. Decarlos Neto et al. (2002) relataram que plantas de tangerineira 'Cleópatra' estavam com altura ideal para repicagem aos 120 d.a.s. Segundo Carvalho e Souza (1996), foram necessários mais de 120 dias para que porta-enxertos de tangerineira 'Cleópatra', adubados com KNO_3 , atinjam altura superior a 10 cm.

No presente trabalho, foi possível obter plantas de tangerineira 'Cleópatra' aptas à repicagem aos 102 d.a.s., mostrando que esse porta-enxerto apresentou um bom crescimento, atingindo o ponto de repicagem em menor tempo em comparação com os resultados encontrados na literatura.

Souza et al. (2005), avaliando o efeito da composição do substrato e da inoculação do fungo micorrízico *Acaulospora scrobiculata* em plantas de 'Flying dragon', observaram que a inoculação com o FMA não promoveu incremento significativo na altura e no diâmetro do caule das plantas aos 120 d.a.s.

Alguns trabalhos foram realizados com o objetivo de avaliar o crescimento da tangerineira 'Cleópatra' da sementeira até o ponto de repicagem. De acordo com as condições de cultivo de cada trabalho, Carvalho e Souza (1996) obtiveram plantas com altura de 13,13 cm e diâmetro do caule igual a 1,87 mm aos 120 d.a.s., Decarlos Neto et al. (2002) obtiveram plantas com diâmetro do caule igual a 1,9 mm aos 120 d.a.s. e Jabur e Martins (2002) obtiveram plantas com diâmetro do caule igual a 2,21 mm de diâmetro aos 139 d.a.s.

Os resultados obtidos neste trabalho, utilizando-se a inoculação de *Acaulospora scrobiculata* em plantas de tangerineira 'Cleópatra', acarretaram incrementos de 4,02% na altura e de 3,6% no número de folhas (Tabela 2). Aos 140 d.a.s., as plantas inoculadas com o FMA apresentaram incremento de 3,6% no diâmetro do caule em comparação com as plantas não-inoculadas (Figura 3).

Foi observado efeito benéfico das concentrações 0,1, 0,5 e 1,00 mg L⁻¹ do BB-16 sobre o diâmetro do caule das plantas (Figura 4).

Neste trabalho, não foi verificado efeito das diferentes concentrações do BB-16 sobre a altura, número de folhas, massa seca das folhas, massa seca do caule, massa seca do sistema radicular e área foliar das plantas de tangerineira 'Cleópatra'. Segundo Khripach et al. (2000), o efeito dos brassinosteróides pode ser baixo quando as condições em que as plantas estão crescendo estão propícias a elas. O período de 120 d.a.s. de cultivo das plantas nos tubetes pode não ter sido suficiente para dar resultado em condições estressantes necessárias para se obter respostas do BB-16 sobre as plantas para as características acima citadas.

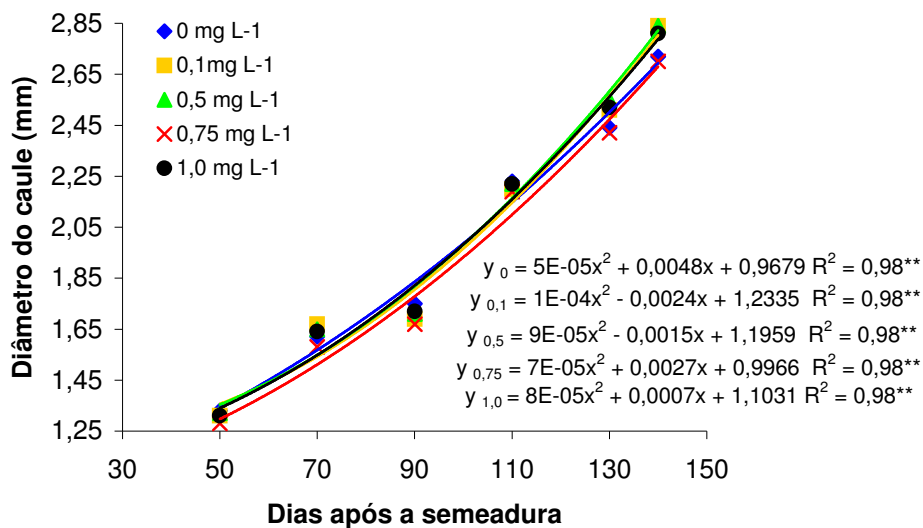


Figura 4. Diâmetro do caule (medido a 1,5 cm do colo da planta) da tangerineira 'Cleópatra' em função das diferentes concentrações do Biobras-16 nas diferentes épocas de avaliação.

A inoculação com o FMA promoveu aumento de 8,3% na massa seca das folhas e de 8,8% na massa seca do caule do porta-enxerto. Por outro lado, a inoculação com o FMA não influenciou no aumento da massa seca do sistema radicular das plantas aos 140 dias após a semeadura (Tabela 3).

Rocha et al. (1994) observaram incremento de 24% na massa seca da parte aérea das plantas de tangerineira 'Cleópatra' inoculadas com FMAs em substrato esterilizado, aos 120 d.a.s., enquanto que Souza et al. (2005) relataram que os FMAs promoveram incrementos de 34% na massa seca da parte aérea e 50% na massa seca do sistema radicular, nas plantas do porta-enxerto 'Flying dragon' cultivados no substrato esterilizado de solo e areia.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, a inoculação com o FMA proporcionou menor efeito na massa seca das folhas e do caule das plantas de tangerineira 'Cleópatra' em comparação com os resultados encontrados na literatura, o que pode estar atribuído ao substrato não esterilizado utilizado, à competição com outros fungos do solo ou também à necessidade de maior tempo para o estabelecimento do FMA.

Carvalho e Souza (1996) relataram que as plantas de tangerineira 'Cleópatra' apresentaram massa seca da parte aérea igual a 0,47 g e massa seca do sistema radicular igual a 0,14 g aos 120 d.a.s. Decarlos Neto et al. (2002) obtiveram plantas com massa seca da parte aérea equivalente a 0,46 g e massa seca do sistema radicular igual a 0,12 g, aos 120 d.a.s. Os resultados obtidos por Jabur e Martins (2002) foram iguais a 0,37 g para massa seca da parte aérea aos 134 d.a.s. e 0,16 g planta⁻¹ aos 139 d.a.s. para massa seca do sistema radicular.

Neste trabalho, aos 140 d.a.s., mesmo nas plantas não inoculadas com o FMA, foi observado um acúmulo de massa seca da parte aérea de 0,96 g planta⁻¹, o que pode ser considerado um indicador da boa qualidade das mudas.

Na Tabela 3, observa-se que a inoculação com o FMA foi eficiente em promover incremento de 5,5% na área foliar das plantas de tangerineira 'Cleópatra'.

Tabela 3. Massa seca das folhas, do caule, da raiz e área foliar da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

Inoculação com FMA	Massa seca folhas (g planta ⁻¹)	Massa seca caule (g planta ⁻¹)	Massa seca raiz (g planta ⁻¹)	Área foliar (cm ²)
Com	0,70 a	0,34 a	0,33 a	87,7 a
Sem	0,65 b	0,32 b	0,32 a	83,1 b
CV (%)	6,15	7,13	7,29	6,13

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Souza et al. (2005), estudando os efeitos de duas espécies de FMAs sobre o desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto 'Flying dragon', recomenda a utilização do inóculo de *Acaulospora scrobiculata* em solos mais pobres nutricionalmente. Em substratos com baixa disponibilidade de nutrientes, os FMAs reduzem o tempo para obtenção da muda cítrica. Segundo Epstein e Bloom (2006), as associações micorrízicas desenvolvem bem em solos deficientes em nutrientes.

A inoculação com o FMA *Acaulospora scrobiculata* promoveu incrementos na massa seca das folhas e do caule das plantas, embora os ganhos observados sejam bem inferiores aos obtidos em outros trabalhos que utilizam substratos esterilizados.

O tempo para a produção do porta-enxerto foi adequado em comparação com os resultados encontrados na literatura para a espécie escolhida, o que pode estar associado às boas condições de cultivo durante a execução do trabalho, que foram benéficas ao crescimento e desenvolvimento do porta-enxerto.

4.1.2. Conteúdo de nutrientes na massa seca

4.1.3. Conteúdo de nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura

As médias para o conteúdo dos nutrientes na massa seca das folhas são apresentadas na Tabela 4. Observa-se que os maiores conteúdos de P, K e Fe na massa seca das folhas ocorreram nas plantas inoculadas com o FMA.

Tabela 4. Conteúdo dos nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

FMA	Conteúdo de nutrientes							
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn
	----- mg planta ⁻¹ -----						----µg planta ⁻¹ ---	
Com	10,1 a	1,13 a	16,3 a	8,71 a	1,49 a	1,14 a	66,7 a	22,8 a
Sem	9,80 a	1,07 b	15,5 b	8,41 a	1,44 a	1,08 a	62,0 b	22,5 a
CV (%)	6,98	5,06	7,04	6,42	12,8	9,50	9,83	12,6

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Segundo Sieverding (1991), os fungos micorrízicos são importantes por aumentarem a capacidade de absorção de nutrientes pela planta cítrica, especialmente aqueles que se movimentam por difusão e de baixa mobilidade, como o fósforo e zinco. O incremento na absorção de nutrientes deve-se às hifas fúngicas que funcionam como extensões das raízes e, conseqüentemente, aumentam sua capacidade em explorar maior volume de solo. Provavelmente, isso explica a maior absorção de fósforo e potássio em plantas inoculadas com fungos micorrízicos, uma vez que as hifas do FMA aumentam a superfície específica das raízes favorecendo uma maior exploração do volume do solo ocupado por elas.

Mengel e Kirkby (1982) relataram que o potássio, amônio e fosfato estão normalmente presentes em baixas concentrações na solução do solo, sendo mobilizados para a superfície das raízes por difusão, um processo de mobilização considerado lento. Já o fluxo em massa é importante para a mobilização de cálcio e nitrato. Ruiz et al. (1999) observaram que o potássio é predominantemente transportado por difusão e o cálcio e o magnésio são transportados por fluxo de massa.

Sena et al. (2002) observaram acúmulo mais alto dos micronutrientes Fe, Zn e Mn em plantas cítricas inoculadas com FMA em comparação com plantas não-inoculadas. Segundo Epstein e Bloom (2006), a associação simbiótica de raízes com fungos micorrízicos facilita a absorção de fósforo, de ferro e de manganês.

Lima (1986) observou que a associação dos fungos micorrízicos em raízes de plantas cítricas facilita a absorção de nutrientes, especialmente o fósforo, zinco e manganês.

Os conteúdos de N, Ca, Mg, S e Zn na massa seca das folhas das plantas inoculadas e não-inoculadas com FMA não diferiram entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 4).

Verifica-se que, na concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ do BB-16, as plantas de tangerineira 'Cleópatra' apresentaram um acréscimo de 6,4% no conteúdo de P na massa seca das folhas em relação à testemunha (Tabela 5).

A inoculação das plantas com FMA quando receberam a concentração de $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ do BB-16 promoveu aumento de 23,2% no conteúdo de manganês na massa seca das folhas de plantas de tangerineira 'Cleópatra' em comparação com as plantas não inoculadas com FMA (Tabela 6).

Tabela 5. Conteúdo de fósforo (mg planta^{-1}) na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função das diferentes concentrações do Biobras-16

Concentração do BB-16 (mg L^{-1})				
0,0 (testemunha)	0,1	0,5	0,75	1,00
1,09 B	1,08 B	1,16 A	1,06 B	1,12 B

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).
CV (%) = 5,06

Tabela 6. Conteúdo de manganês ($\mu\text{g planta}^{-1}$) na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata* e das diferentes concentrações do Biobras-16

Inoculação com FMA	Concentração do BB-16 (mg L^{-1})				
	0,0 (testemunha)	0,1	0,5	0,75	1,00
Com	12,8 a A	12,1 a A	14,1 a A	12,2 a A	14,3 a A
Sem	12,6 a A	13,8 a A	12,3 a A	12,0 a A	11,6 b A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).
CV (%) = 9,88

4.1.4. Conteúdo de nutrientes na massa seca do caule da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura

A inoculação com o FMA nas plantas de tangerineira 'Cleópatra' promoveram aumentos no conteúdo de Fe e de Mn na massa seca do caule das plantas aos 140 dias após a semeadura, mostrando a importância do FMA na absorção dos micronutrientes (Tabela 7).

Tabela 7. Conteúdo dos nutrientes na massa seca do caule da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

FMA	Conteúdo de nutrientes							
	N	P	K	Mg	S	Fe	Zn	Mn
	----- mg planta ⁻¹ -----					-----µg planta ⁻¹ -----		
Com	2,05 a	0,57 a	4,85 a	0,66 a	0,27 a	12,8 a	7,8 a	1,53 a
Sem	1,99 a	0,55 a	4,64 a	0,64 a	0,26 a	10,9 b	8,7 a	1,41 b
CV (%)	8,51	7,41	8,96	11,1	14,3	15,7	21,4	9,33

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Analisando os resultados da Tabela 8, observa-se que o conteúdo de Ca na massa seca do caule foi influenciado pela inoculação com FMA. As plantas inoculadas apresentaram incremento de 14% no conteúdo de Ca na massa seca do caule em relação às plantas não inoculadas com o FMA. Por outro lado, nas plantas inoculadas, a concentração de 0,1 mg L⁻¹ do BB-16 foi prejudicial para o conteúdo de Ca na massa seca do caule. As plantas inoculadas com o FMA, quando receberam a concentração de 0,75 mg L⁻¹ do BB-16, apresentaram maior conteúdo de Ca na massa seca do caule do que as plantas não inoculadas com FMA. As concentrações de 0,1 e 0,75 mg L⁻¹ diferiram da testemunha pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8. Conteúdo de cálcio (mg planta^{-1}) na massa seca do caule da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata* e das diferentes concentrações do Biobras-16

FMA	Concentração do BB-16 (mg L^{-1})				
	0,0 (testemunha)	0,1	0,5	0,75	1,00
Com	1,95 a A	1,59 b B	1,74 a A	1,71 a B	1,78 a A
Sem	1,71 b A	1,84 a A	1,84 a A	1,49 b A	1,79 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).

CV (%) = 8,38

4.1.5. Conteúdo de nutrientes na massa seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura

O maior conteúdo de K e Fe na massa seca da parte aérea foi observado nas plantas inoculadas com o FMA (Tabela 9). Cardoso e Lambais (1993) relataram que as plantas de tangerineira 'Cleópatra' inoculadas com o FMA *Glomus etunicatum* apresentaram maior conteúdo de K na parte aérea.

Tabela 9. Conteúdo dos nutrientes na massa seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

FMA	Conteúdo de nutrientes					
	P	K	Mg	S	Fe	Zn
	----- mg planta^{-1} -----			----- $\mu\text{g planta}^{-1}$ -----		
Com	1,67 a	21,1 a	2,15 a	1,42 a	79,4 a	30,5 a
Sem	1,60 a	20,2 b	2,08 a	1,35 a	72,9 b	31,3 a
CV (%)	7,92	7,01	11,0	9,56	9,23	13,3

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

A inoculação com o FMA em associação com a concentração do BB-16 de 1,00 mg L⁻¹ proporcionou aumento no conteúdo de nitrogênio na massa seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra', o que promoveu incremento de 15,4% no conteúdo de nitrogênio na massa seca da parte aérea das plantas (Tabela 10).

Tabela 10. Conteúdo de nitrogênio (mg planta⁻¹) na massa seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata* e das diferentes concentrações do Biobras-16

Inoculação com FMA	Concentração do BB-16 (mg L ⁻¹)				
	0,0 (testemunha)	0,1	0,5	0,75	1,00
Com	12,3 a A	11,1 a A	12,8 a A	11,6 a A	12,7 a A
Sem	11,6 a A	12,1 a A	12,3 a A	11,4 a A	11,0 b A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).

CV (%) = 6,92

Na ausência da inoculação com o FMA, foi observado incremento de 10% no conteúdo de Ca na massa seca da parte aérea das plantas quando receberam a concentração de 0,1 mg L⁻¹ do BB-16 (Tabela 11).

Tabela 11. Conteúdo de cálcio (mg planta^{-1}) na massa seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata* e das diferentes concentrações do Biobras-16

Inoculação com FMA	Concentração do BB-16 (mg L^{-1})				
	0,0 (testemunha)	0,1	0,5	0,75	1,00
Com	10,6 a A	9,75 b A	11,0 a A	10,1 a A	10,9 a A
Sem	9,85 a A	10,7 a A	10,2 a A	9,67 a A	10,2 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).

CV (%) = 5,92

A inoculação com FMA em associação com a concentração de $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ do BB-16 nas plantas de tangerineira 'Cleópatra' promoveram aumentos de 21,5% no conteúdo de Mn na massa seca da parte aérea das plantas aos 140 dias após a semeadura (Tabela 12). Cardoso e Lambais (1993) relataram que plantas de tangerineira 'Cleópatra' inoculadas com FMA apresentaram maior conteúdo de Mn na parte aérea.

Tabela 12. Conteúdo de manganês ($\mu\text{g planta}^{-1}$) na massa seca da parte aérea da tangerineira 'Cleópatra' aos 140 dias após a semeadura em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata* e das diferentes concentrações do Biobras-16

Inoculação com FMA	Concentração do BB-16 (mg L^{-1})				
	0,0 (testemunha)	0,1	0,5	0,75	1,00
Com	14,4 a A	13,5 a A	15,7 a A	13,7 a A	15,8 a A
Sem	13,9 a A	15,3 a A	13,8 a A	13,3 a A	13,0 b A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).

CV (%) = 9,45

4.2. Experimento 2

4.2.1. Crescimento da tangerineira 'Cleópatra' do ponto de repicagem até os 130 dias após a repicagem

As curvas de crescimento do porta-enxerto para altura, número de folhas e diâmetro do caule dos 10 aos 130 dias após a repicagem estão apresentadas nas Figuras 5, 6 e 7.

A inoculação com o FMA promoveu aumento na altura e no número de folhas para o porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem (Figura 5 e 6). A Figura 7 ilustra o diâmetro do caule das plantas de tangerineira 'Cleópatra' em todas as épocas de avaliação, no período entre 10 e 130 dias após a repicagem. Não houve efeito da inoculação do fungo micorrízico e das diferentes concentrações do BB-16 no aumento do diâmetro do caule das plantas.

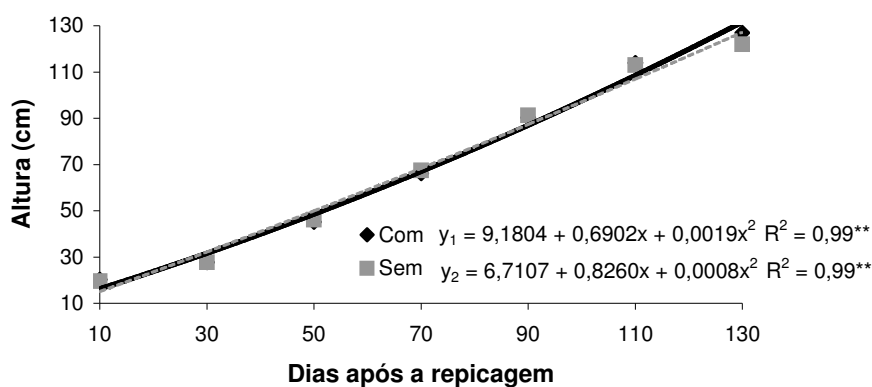


Figura 5. Altura das plantas da tangerineira 'Cleópatra' inoculada e não-inoculada com *Acaulospora scrobiculata* nas diferentes épocas de avaliação.

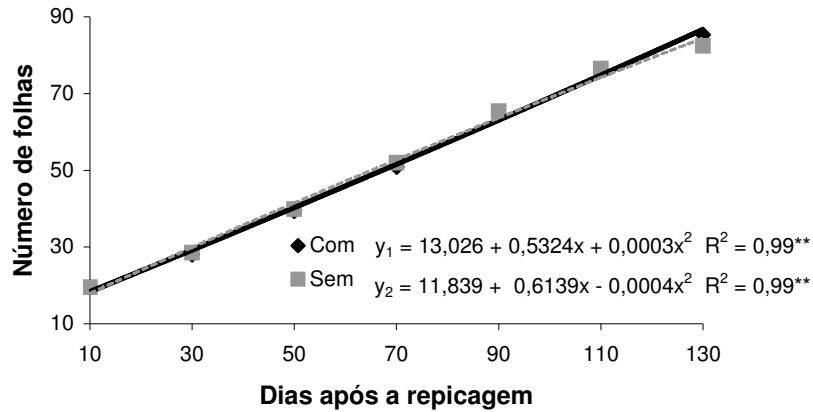


Figura 6. Número de folhas da tangerineira 'Cleópatra' inoculada e não-inoculada com *Acaulospora scrobiculata* nas diferentes épocas de avaliação.

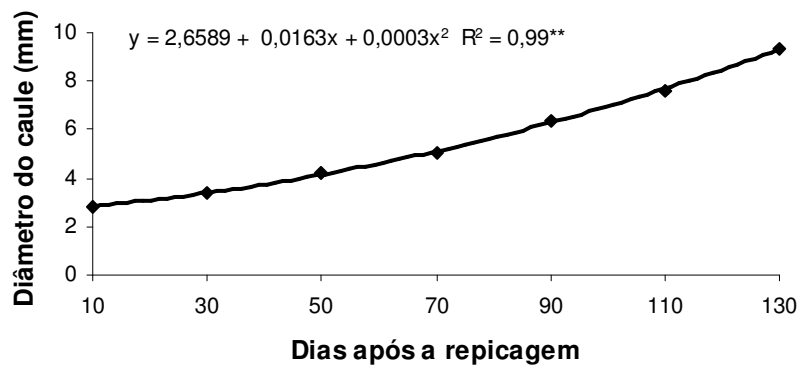


Figura 7. Diâmetro do caule (medido a 1,5 cm do colo da planta) nas diferentes épocas de avaliação.

As plantas inoculadas com o FMA apresentaram incrementos de 4% na altura e de 3,5% no número de folhas (Tabela 13).

Tabela 13. Altura e número de folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

Inoculação com FMA	Altura (cm)	Número de folhas
Com	127 a	85,3 a
Sem	122 b	82,4 b
CV (%)	5,08	4,12

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Esposti e Siqueira (2004) obtiveram plantas de tangerineira 'Cleópatra' com máximo crescimento de 132,3 cm de altura e diâmetro do caule igual a 8,6 mm medido a 5 cm de altura do colo aos 305 dias após a semeadura.

A inoculação com o FMA e a utilização das diferentes concentrações do BB-16 não proporcionaram aumento na massa seca das folhas, na massa seca do caule, na massa seca da parte aérea, na massa seca da raiz e na área foliar das plantas de tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem (Tabela 14).

Provavelmente, os resultados obtidos neste trabalho podem estar relacionados às condições adequadas de cultivo em que as plantas foram submetidas durante a condução do experimento. As plantas foram cultivadas em condições favoráveis de adubação, de sanidade, além de terem sido bem irrigadas. Dessa forma, as plantas apresentaram um comportamento satisfatório com relação ao vigor durante o tempo de execução deste trabalho, o que pode não ter resultado em estresse suficiente para se obter efeito do BB-16 e da inoculação com o FMA.

Rezende et al. (1995) relataram que o limoeiro 'Cravo' apresentou maior crescimento em altura e diâmetro do caule quando receberam uma dose de 5.120 g de P_2O_5 por m^{-3} de substrato. Neste trabalho, o porta-enxerto recebeu uma dose de 105 g de P_2O_5 por m^{-3} de substrato. Mesmo tendo sido aplicada uma dose de fósforo muito inferior à considerada ótima para o crescimento de porta-enxertos

cítricos, as plantas apresentaram um bom crescimento e desenvolvimento, o que, aliado aos bons tratos culturais e à boa fertilização nitrogenada, acarretaram a redução do estresse no período de condução do trabalho.

Tabela 14. Média geral da massa seca das folhas, do caule, da parte aérea, da raiz e área foliar da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem

Massa seca folhas (g planta⁻¹)	Massa seca caule (g planta⁻¹)	Massa seca parte aérea (g planta⁻¹)	Massa seca raiz (g planta⁻¹)	Área foliar (cm²)
11,9	14,1	26,0	8,39	1262

Pereira et al. (2006), avaliando o efeito da micorrização da tangerineira 'Sunki' fertilizada com diferentes doses de um fertilizante de liberação controlada, formulação 17-07-12, relataram que plantas de tangerineira 'Sunki' inoculadas com *Acaulospora scrobiculata* apresentaram incrementos de 78,4, 43,5 e 46,4% de massa seca do caule, massa seca das folhas e massa seca do sistema radicular, respectivamente. Segundo o mesmo autor, o resultado benéfico de crescimento da tangerineira 'Sunki' inoculada com o FMA foi possível com a utilização do substrato Plantmax não esterilizado em associação com a dose de até 276 g de P₂O₅ na forma de um fertilizante de liberação lenta.

Weber et al. (1990) concluíram que as plantas de tangerineira 'Cleópatra' inoculadas com o FMA apresentaram incremento na massa seca da parte aérea. As plantas inoculadas apresentaram massa seca da parte aérea igual a 1,20 g aos 180 dias após a repicagem.

4.2.2. Conteúdo e Teores de nutrientes na massa seca

4.2.3. Conteúdo de nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem

Não houve efeito da inoculação com o FMA e das diferentes concentrações do BB-16 nos conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S e Zn na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' (Tabela 15). De acordo com os resultados obtidos, a fertilização do substrato com adubo de liberação lenta contendo macro e micronutrientes pode não ter sido benéfica para a simbiose das plantas com o FMA.

Tabela 15. Média geral do conteúdo dos nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem

N	P	K	Ca	Mg	S	Zn
----- mg planta ⁻¹ -----					μg planta ⁻¹	
369,4	27,98	179,8	306,2	45,7	24,3	337,5

A inoculação com o FMA promoveu aumento de 15,7% no conteúdo de Fe e de 19,4% no conteúdo de Mn na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem (Tabela 16).

Tabela 16. Conteúdo de Fe e Mn (μg planta⁻¹) na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

Inoculação com FMA	Fe	Mn
Com	1768,4 a	601,04 a
Sem	1527,8 b	503,01 b
CV (%)	13,5	19,9

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

4.2.4. Teores de nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem

Os teores dos nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem estão apresentados na Tabela 17. Observa-se que a inoculação das plantas com o FMA promoveu aumentos de 11,9% no teor de Fe e de 15,6% no teor de Mn na massa seca das folhas. Entretanto, os teores de N e Ca foram maiores nas plantas não-inoculadas (Tabela 17).

Tabela 17. Teores dos nutrientes na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata*

Inoculação com FMA	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn
	----- g kg ⁻¹ -----					----- mg kg ⁻¹ -----		
Com	30,7 b	2,35 a	15,1 a	25,2 b	3,77 a	146,9 a	28,8 a	49,7 a
Sem	31,8 a	2,38 a	15,3 a	26,4 a	3,95 a	131,2 b	28,1 a	43,0 b
CV (%)	4,89	2,36	15,1	5,40	3,86	12,0	28,4	16,9

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade).

Neste trabalho, a inoculação com o FMA proporcionou resultados mais expressivos na absorção dos micronutrientes Fe e Mn pela planta hospedeira, tanto na primeira fase quanto na segunda fase de produção da muda cítrica.

A Tabela 18 ilustra o teor de enxofre na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem. Nas plantas não inoculadas com o FMA, a concentração de 0,45 mg L⁻¹ do BB-16 reduziu o teor de S na massa seca das folhas, mas nas plantas inoculadas esse efeito negativo não foi observado. Nesta concentração, a inoculação com o FMA promoveu incremento de 22% no teor de enxofre na massa seca das folhas aos 130 dias após a repicagem.

Tabela 18. Teor de enxofre (mg kg^{-1}) na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem em função da inoculação com *Acaulospora scrobiculata* e das diferentes concentrações do Biobras-16

Inoculação com FMA	Concentração do BB-16 (mg L^{-1})				
	0,0 (testemunha)	0,15	0,3	0,45	0,6
Com	1,97 a A	2,09 a A	2,07 a A	2,22 a A	2,02 a A
Sem	2,16 a A	2,04 a A	2,01 a A	1,82 b B	2,09 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (5% de probabilidade) e médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem da testemunha pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).
CV (%) = 8,20

Com exceção do S, os teores dos nutrientes na massa seca das folhas encontrados neste trabalho estão dentro da faixa de teores encontrados por Marini et al. (2005) nesta fase de produção do porta-enxerto, sendo que esse autor trabalhou com a tangerineira 'Sunki', um porta-enxerto que apresenta algumas similaridades com a tangerineira 'Cleópatra'. Segundo Marini et al. (2005), os teores médios de N, P, K, Ca, Mg, S e Fe na massa seca foliar do porta-enxerto tangerineira 'Sunki' aos 210 dias após a repicagem foram de 30,5, 1,97, 12,3, 30,3, 1,83, 4,8 g kg^{-1} e 152,0 mg kg^{-1} , respectivamente.

Apesar de ter sido verificada a presença de fungos micorrízicos, não foi possível quantificar a porcentagem de colonização micorrízica nas raízes das plantas de tangerineira 'Cleópatra' pela metodologia adotada.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inoculação do fungo micorrízico *Acaulospora scrobiculata* e a aplicação de diferentes concentrações de um análogo de brassinosteróide sobre o crescimento vegetativo e sobre o estado nutricional da tangerineira 'Cleópatra', antes e após a repicagem.

Foram conduzidos dois experimentos, o primeiro da semeadura (julho de 2005) até o ponto de repicagem (novembro de 2005) e o segundo do ponto de repicagem (novembro de 2005) até os 130 dias após a repicagem (março de 2006). Os experimentos foram realizados em casa de vegetação localizada na área experimental da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes, região norte do Estado do Rio de Janeiro.

O experimento 1 foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 X 2, avaliando-se 5 concentrações de um análogo de brassinosteróide, Biobras-16 (0,0; 0,1; 0,5; 0,75 e 1,00 mg L⁻¹) e com e sem inoculação com *Acaulospora scrobiculata*, com 4 repetições, totalizando 40 parcelas. Utilizou-se um substrato comercial da marca Plantmax Hortaliças[®]. Para os tratamentos com inoculação com o fungo micorrízico, foram utilizados 2,5% do inóculo do FMA em relação ao substrato Plantmax. A primeira aplicação do Biobras-16 foi realizada, aproximadamente, aos 40 dias após a semeadura, sendo repetida a cada 15 dias, totalizando seis aplicações. Para cada concentração, foram preparados 200 mL de solução para a aplicação em 96 plantas. As avaliações das plantas foram iniciadas em agosto de 2005, sendo

realizadas a cada 20 dias até 140 dias após a sementeira, medindo-se o diâmetro do caule a 1,5 cm de altura do colo, altura da planta e número de folhas. Aos 140 dias após a sementeira, seccionou-se a parte aérea das plantas rente ao colo e, posteriormente, avaliou-se a área foliar. As folhas, caules e raízes foram acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa de circulação forçada de ar, à temperatura de 72°C, durante 72 horas, sendo, posteriormente, quantificadas a massa seca das folhas, do caule e do sistema radicular. Após a secagem, as folhas e os caules foram triturados e submetidos a análises químicas para determinação dos teores de nutrientes. As médias do diâmetro do caule, da altura das plantas, do número de folhas, da área foliar, da massa seca da parte aérea e do sistema radicular, bem como os teores e os conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn e Mn nas folhas e no caule, foram submetidos a análises de variância. Quando o teste F foi significativo, as médias dos tratamentos do brassinosteróide foram comparadas pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade. Já as médias dos tratamentos com e sem inoculação com *Acaulospora scrobiculata* foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Para as avaliações biométricas, os dados foram avaliados em esquema de parcelas subdivididas no tempo e foram submetidos a análises de regressão polinomial.

O experimento 2 foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 X 2, avaliando-se 5 concentrações de um análogo de brassinosteróide, Biobras-16 (0,0; 0,15; 0,3; 0,45 e 0,6 mg L⁻¹) e com e sem inoculação com *Acaulospora scrobiculata*, com 4 repetições, totalizando 40 parcelas. Até a repicagem, as plantas foram obtidas conforme descrito no experimento 1. As plantas, que apresentavam no mínimo 14 cm de altura, por volta de quatro meses da sementeira, foram repicadas dos tubetes para citrovassos de 3,8 dm³, onde foi completada a formação da muda. A primeira aplicação do Biobras-16 foi realizada aos 12 dias após a repicagem, sendo repetida por seis vezes, a cada 20 dias. Para cada concentração foram preparados 200 mL de solução para a aplicação em 16 plantas. No momento da repicagem, o substrato (Plantmax) recebeu uma adubação com o fertilizante de liberação lenta Osmocote®, na formulação 22-4-8 (N-P-K) mais micronutrientes. A primeira avaliação de crescimento (altura, número de folhas e diâmetro do caule a 1,5 cm de altura do colo) foi realizada no momento da repicagem, no início do

experimento, sendo as outras avaliações efetuadas a cada 20 dias. As plantas foram colhidas aos 130 dias após a repicagem. No momento da colheita do experimento, as plantas foram avaliadas quanto à área foliar. As folhas, os caules e as raízes foram acondicionados em sacos de papel e foram secos em estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 72°C, durante 72 horas, sendo, posteriormente, quantificadas a massa seca das folhas, do caule e do sistema radicular. Após a secagem, as folhas foram trituradas em moinho tipo Wiley e submetidas a análises químicas para determinação dos teores de nutrientes. As médias do diâmetro do caule, da altura das plantas, do número de folhas, da área foliar, da massa seca das folhas, do caule e do sistema radicular, assim como os teores e os conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn e Mn nas folhas, foram submetidos a análises de variância. Quando o teste F foi significativo, as médias dos tratamentos do brassinosteróide foram comparadas, pelo teste de Dunnett, ao nível de 5% de probabilidade. Já as médias dos tratamentos com e sem inoculação com *Acaulospora scrobiculata* foram comparadas, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Para as avaliações biométricas, os dados foram avaliados em esquema de parcelas subdivididas no tempo e foram submetidos a análises de regressão polinomial.

As conclusões foram:

Experimento 1:

A inoculação com o fungo micorrízico vesículo-arbuscular (FMA) *Acaulospora scrobiculata* promoveu incremento na altura, no diâmetro do caule, no número de folhas, na massa seca da folha, na massa seca do caule e na área foliar das plantas de tangerineira 'Cleópatra'. As concentrações de 0,1, 0,5 e 1,00 mg L⁻¹ do Biobras-16 promoveram aumento no diâmetro do caule do porta-enxerto em comparação com a testemunha. O FMA promoveu aumento no conteúdo de P, K e Fe na massa seca das folhas, no conteúdo de Fe e Mn na massa seca do caule e no conteúdo de K e Fe na massa seca da parte aérea das plantas de tangerineira 'Cleópatra'. A concentração de 0,5 mg L⁻¹ promoveu aumento no conteúdo de P na massa seca das folhas. As plantas inoculadas com o FMA, quando receberam a concentração de 1,00 mg L⁻¹ do Biobras-16, apresentaram aumento no conteúdo de Mn na massa seca das folhas e da parte aérea. O FMA promoveu incremento no conteúdo de Ca na massa seca do caule das plantas e

as plantas inoculadas, quando receberam a concentração de $0,75 \text{ mg L}^{-1}$ do Biobras-16, apresentaram maior conteúdo de Ca na massa seca do caule. Plantas inoculadas com o FMA, quando receberam a concentração de $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ do Biobras-16, apresentaram incremento no conteúdo de N na massa seca da parte aérea. Na concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ do BB-16, as plantas de tangerineira 'Cleópatra' apresentaram maior conteúdo de Ca na massa seca da parte aérea, quando estas não foram inoculadas com o FMA.

Experimento 2:

A inoculação com o FMA proporcionou aumento na altura e no número de folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem. Não foi verificado efeito da inoculação com o FMA no diâmetro do caule, na área foliar, na massa seca das folhas, na massa seca do caule e na massa seca da raiz das plantas de tangerineira 'Cleópatra'. Para essas características, não foi verificado efeito do Biobras-16. Não houve efeito da inoculação com o FMA e das diferentes concentrações do Biobras-16 nos conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S e Zn na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a repicagem. A inoculação com o FMA promoveu aumento no conteúdo e no teor de Fe e Mn na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleópatra'. As plantas inoculadas com o FMA, quando receberam a concentração de $0,45 \text{ mg L}^{-1}$ do Biobras-16, apresentaram incremento no teor de S na massa seca das folhas.

Conclusão Geral:

Foi observado efeito benéfico da inoculação com o fungo micorrízico *Acaulospora scrobiculata* antes e após a repicagem. As concentrações de $0,1$, $0,5$ e $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ do Biobras-16 promoveram aumento no diâmetro do caule das plantas. Nas duas fases de produção das mudas foi observada interação entre as aplicações do Biobras-16 e da inoculação com o FMA sobre o estado nutricional das mudas. Mesmo na ausência da inoculação com o FMA *Acaulospora scrobiculata* e da aplicação do Biobras-16, as plantas de tangerineira 'Cleópatra' apresentaram bom crescimento e vigor no viveiro. As plantas atingiram o ponto de repicagem aos 102 dias após a semeadura e diâmetro do caule apto para a enxertia aos 270 dias após a semeadura. Assim, conclui-se que, nas condições de condução desse trabalho, foi observado efeito benéfico da inoculação com o

FMA *Acaulospora scrobiculata* e das diferentes concentrações do Biobras-16 sobre o crescimento e estado nutricional da tangerineira 'Cleópatra'.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ábrahám, E., Rigó, G., Székely, G., Nagy, R., Koncz, C., Szabados, L. (2003) Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 51: 363-372.
- Anuradha, S., Rao, S.S.R. (2001) Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regulation*, 33: 151-153.
- Anuradha, S., Rao, S.S.R. (2003) Application of brassinosteroids to rice seeds reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity. *Plant Growth Regulation*, 40: 29-32.
- Araújo, J.R.G., Salibe, A.P. (2002) Caracterização físico-morfológica de frutos de microtangerinas (*Citrus* spp.) de potencial utilização como porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 24 (3): 618-621.
- Augé, R.M. (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Review. *Mycorrhiza*, 11: 3-42.

- Azpiroz, R., Wu, Y., LoCascio, J.C., Feldmann, K.A. (1998) An Arabidopsis brassinosteroid-dependent mutant is blocked in cell elongation. *The Plant Cell*, 10: 219-230.
- Baldassari, R.B., Goes, A.de., Tannuri, F. (2003) Declínio dos citros: algo a ver com o sistema de produção de mudas cítricas? *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 25 (2): 357-360.
- Balota, E.L., Kanashiro, M. (1998) A microbiologia do solo na cultura dos citros. *Laranja*, Cordeirópolis, 19 (1): 167-183.
- Beretta, M.J., Lefevre, A.F.V. (1986) Declínio: resistência de variedades e pesquisas recentes. *Laranja*, Cordeirópolis, 7 (1): 71-96.
- Caravaca, F., Díaz, E., Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., Roldán, A. (2003) Photosynthetic and transpiration rates of *Olea europaea* subsp. *sylvestris* and *Rhamnus lycioides* as affected by water deficit and mycorrhiza. *Biologia Plantarum*, 46 (4): 637-639.
- Cardoso, E.J.B.N., Antunes, V., Silveira, A.P.D., Oliveira, M.H.A.de. (1986) Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em porta-enxertos de citros. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, Campinas, 10: 25-30.
- Cardoso, E.J.B.N., Lambais, M.R. (1993) Efeito de aldicarb e fosetil-Al no desenvolvimento e na colonização micorrízica de tangerina Cleópatra. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, 17: 179-184.
- Carvalho, S.A.de. (1994) Produção de porta-enxertos cítricos, sob doses crescentes de nitrato de potássio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 29 (1): 87-90.
- Carvalho, S.A., Souza, M. (1996) Doses e freqüência de aplicação de nitrato de potássio no crescimento do limoeiro 'Cravo' e da tangerineira 'Cleópatra' em bandejas. *Pesquisa Agropecuária brasileira*, Brasília, 31 (11): 815-822.

- Carvalho, S.A., Mattos Júnior, D.de., Souza, M. (2000) Efeito do KNO₃ nos teores de macronutrientes na matéria seca total de porta-enxertos cítricos produzidos em bandejas. *Bragantia*, Campinas, 59 (1): 89-94.
- Carvalho, S.A.de. (2001) Propagação dos citros. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 22 (209): 21-25.
- Carvalho, S.A. (2003) Regulamentação atual da agência de defesa agropecuária para produção, estocagem, comércio, transporte e plantio de mudas cítricas no Estado de São Paulo. *Laranja*, Cordeirópolis, 24 (1): 199-239.
- Clouse, S.D., Sasse, J. (1998) Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Annual Reviews Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 49: 427-451.
- Colli, S. (2004) Outros reguladores: brassinosteróides, poliaminas, ácidos jasmônico e salicílico. *In: Kerbauy, G. B. Fisiologia vegetal*, São Paulo, p. 333-340.
- Cortes, P.A., Terrazas, T., León, T.C., Saavedra, A.L. (2003) Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). *Scientia Horticulturae*, 97: 95-73.
- Cruz, A.F., Martins, M.A. (1997) Transferência de nitrogênio entre plantas interconectadas por fungos micorrízicos arbusculares. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 21: 559-565.
- Decarlos Neto, A., Siqueira, D.L.de., Pereira, P.R., Alvarez, V.H. (2002) Crescimento de porta-enxertos de citros em tubetes influenciados por doses de N. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 24 (1): 199-203.
- Dhaubhadel, S., Chaudhary, S., Dobinson, K.F., Krishna, P. (1999) Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. *Plant Molecular Biology*, 40: 333-342.

- Dhaubhadel, S., Browning, K.S., Gallie, D.R., Krishma, P. (2002) Brassinosteroid functions to protect the translational machinery and heat-shock protein synthesis following thermal stress. *The Plant Journal*, 29 (6): 681-691.
- Díaz, S.H., Morejón, R., Núñez, M. (2003) Influencia del BIOBRAS-16 en el rendimiento y otros caracteres en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.); [http://www.inca.edu.cu/otras_web/revista/CT24\(2\),%202003-INTERNET.htm](http://www.inca.edu.cu/otras_web/revista/CT24(2),%202003-INTERNET.htm) em 30/05/06.
- Donadio, L.C., Cabrita, J.R.M., Sempionato, O.R., Paro, M. (1993) Tangerineira 'Cleópatra': vantagens e desvantagens como porta-enxerto na citricultura. *Laranja*, Cordeirópolis, 14 (2): 565-579.
- Ephritikhine, G., Fellner, M., Vannini, C., Lalous, D., Barbier-Brygoo, H. (1999) The sax 1 dwarf mutant of *Arabidopsis thaliana* shows altered sensitivity of growth responses to abscisic acid, auxin, gibberellins and ethylene and is partially rescued by exogenous brassinosteroid. *The Plant Journal*, 18 (3): 303-314.
- Epstein, E., Bloom, A. J. (2006) *Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas*. 2. ed. Londrina: Planta, 403 p.
- Esposti, M.D.D., Siqueira, D.L.de. (2004) Doses de uréia no crescimento de porta-enxertos de citros produzidos em recipientes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 26 (1): 136-139.
- Figueiredo, J.O.de., Pompeu Júnior, J., Pio, R.M., Teófilo Sobrinho, J., Domingues, E.T., Laranjeira, F.F. (1997) Produção inicial do tangor 'Murcote' sobre dezesseis porta-enxertos em São Paulo. *Laranja*, Cordeirópolis, 18 (1): 165-173.
- Figueiredo, J.O.de., De Negri, J.D., Mattos Junior, D.de., Pio, R.M., Laranjeira, F.F., Garcia, V.X.P. (2005) Comportamento de catorze porta-enxertos para o limão 'Eureka km 47' na região de Araraquara-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 27 (1): 73-76.

- Fonseca, E.B.A., Oliveira, E.de., Souza, M.de., Carvalho, J.G.de. (1994) Efeito do fósforo e fungo MVA na nutrição de dois porta-enxertos de citros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 29 (12): 1889-1896.
- Fujioka, S., Yokota, T. (2003) Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 54: 137-164.
- Gimenes-Fernandes, N., Bassanezi, R.B. (2001) Doença de causa desconhecida afeta pomares cítricos no norte de São Paulo e sul do Triângulo Mineiro. *Summa Phytopathologica*, 27 (1):93. (Resumo).
- Gimenes-Fernandes, N., Bassanezi, R.B., Yamamoto, P.T., Ayres, A.J. (2002) Árvores de limoeiro 'Cravo' não mostram sintomas de "morte súbita" em área afetada. *Summa Phytopathologica*, 28 (1):73. (Resumo).
- Girardi, E.A. (2005) *Métodos alternativos de produção de mudas cítricas em recipientes na prevenção da morte súbita dos citros*. Tese (Mestrado em Agronomia) - Piracicaba - SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ, 73p.
- Goicoechea, N., Antolín, M.C., Sánchez-Díaz, M. (1997) Gas exchange is related to the hormone balance in mycorrhizal or nitrogen-fixing alfalfa subjected to drought. *Physiologia Plantarum*, 100: 989-997.
- González-Olmedo, J.L., Córdova, A., Aragón, C.E., Pina, D., Rivas, M., Rodríguez, R. (2005) Effect of analogue of brassinosteroid on FHIA-18 plantlets exposed to thermal stress. *Info Musa*, 14(1): 1-3.
- Graça, J., Barros, J.C.da.S.M.de., Celestino, R.C.A., Vasconcellos, H.de.O. (2001) Porta-enxertos para laranja 'Natal' no Norte Fluminense. *Laranja*, Cordeirópolis, 22 (2): 449-456.
- Grace, C., Stribley, D.P. (1991) A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Micol. Res.* 95: 1160-1162.

- Grassi Filho, H., Pereira, M.A.A., Savino, A.A., Rodrigues, V.T. (2001) Efeito de diferentes substratos no crescimento de mudas de limoeiro 'Cravo' até o ponto de enxertia. *Laranja*, Cordeirópolis, 22 (1): 157-166.
- Huerta, C.M.de.la., Aguilera, R.M., Martinez, M.N., Fonseca, P.C., Machado, B.P. (2001) Efecto de los análogos de brassinosteroides biobras 6 y 16 sobre la productividad del arroz en condiciones de salinidad. *Revista Electrónica Granma Ciencia*, 5 (2): 1-9.
- Jabur, M.A., Martins, A.B.G. (2002) Influência de substratos na formação dos porta-enxertos: limoeiro-Cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e tangerineira-Cleópatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tanaka) em ambiente protegido. *Revista Brasileira de Fruticultura*, São Paulo, 24 (2): 514-518.
- Jesus Junior, W.C.de., Bassanezi, R.B. (2004) Análise da dinâmica e estrutura de focos da morte súbita dos citros. *Fitopatologia Brasileira*, 29 (4): 399-405.
- Johnson, C.R., Hummel, R.L. (1985) Influence of mycorrhizae and drought stress on growth of *Poncirus x Citrus* seedlings. *HortScience*, 24(4): 754-755.
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H., Tas, I. (2003) Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil*, 253: 287-292.
- Khripach, V., Zhabinskii, V., Groot, A . (2000) Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Annals of Botany*, 86: 441-447.
- Krishna, P. (2003) Brassinosteroid-mediated stress responses. *J.Plant Growth Regul.*, 22 (4): 289-297.
- Labrada, F.A., Barceló, F.V., Meléndez, L.G. (2005) Efectos del Biobras-16 en las variedades de caña de azúcar C1051-73 y C85-403 bajo las condiciones de banco de semilla registrada; <http://urbes.ucf.edu.cu/BDP%202005/Catalogo%20M/Cultivos/Ca%C3%B1a/>.

%5C..%5C..%5C..%5CSalas%5CSala%20de%20Tecnolog%C3%ADa%20Agr
opecuaria%201%5CCultivos%5CCa%C3%B1a%5C2.mht em 30/05/06.

Lima, J.E.O.de. (1986) Novas técnicas de produção de mudas cítricas. *Laranja*, Cordeirópolis, 7 (2): 463-468.

Malavolta, E., Vitti, G. C., Oliveira, S.A.de. (1997) *Avaliação do estado nutricional das plantas - Princípios e aplicações*. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 201p.

Marini, F.S., Marinho, C.S., Muniz, R.de.A.M., Carvalho, A.J.C.de.C., Monnerat, P.H. (2005) Doses de sulfato de magnésio em substrato orgânico sobre o crescimento e nutrição de porta-enxertos cítricos. *Laranja*, Cordeirópolis, 26 (1): 121-134.

Marschner, H., Dell, B. (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159: 89-102.

Marulanda, A., Azcón, R., Ruiz-Lozano, J.M. (2003) Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiologia Plantarum*, 119: 526-533.

Mattos Júnior, D.de., Quaggio, J.A., Cantarella, H. (2001) Calagem e adubação dos citros. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 22 (209): 39-46.

Mazorra, L.M., Núñez, M., Hechavarria, M., Coll, F., Sánchez-Blanco, M.J. (2002) Influence of brassinosteroids on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperatures. *Biologia Plantarum*, 45 (4): 593-596.

Mcarthur DAJ, Knowles NR (1993) Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the response of potato to phosphorus deficiency. *Plant Physiol.*, 101:147-160.

Melloni, R., Cardoso, E.J.B.N. (1999) Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. II. Comparação entre

- diferentes espécies cítricas e endófitos. *Revista Brasileira de Ciência do solo*, 23: 59-67.
- Mengel, K., Kirkby, E. A. (1982) *Principles of plant nutrition*, 3. ed. Bern, International Potash Institute, 655 p.
- Modesto, J.C., Rodrigues, J.D., Pinho, S.Z.de. (1999) Ácido giberélico e o desenvolvimento de plântulas de tangerina 'Cleópatra'. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, 56(2).
- Morillon, R., Catterou, M., Sang Wan, B.S., Lassalles, J.P. (2001) Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 212 (2): 199-204.
- Müller, G.W., Laranjeira, F.F., Pompeu JR., J., Cristofani, M., Jorge, M.F. (1997) Epidemias de declínio dos citros em combinações com tangerineira 'Cleópatra' como porta-enxerto, no Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira*, 22: 345. (Suplemento).
- Müller, G.W., De Negri, J.D., Vildoso, C.I.A., Mattos Junior, D., Pompeu Junior, J., Teófilo Sobrinho, J., Carvalho, S.A., Giroto, L.F., Machado, M.A. (2002) Morte súbita dos citros: uma nova doença na citrucultura brasileira. *Laranja*, Cordeirópolis, 23(2): 371-386.
- Müssig, C., Altmann, T. (1999) Physiology and molecular mode of action of brassinosteroids. *Plant Physiol. Biochem.*, 37 (5): 363-372.
- Müssig, C., Shin, G.H., Altmann, T. (2003) Brassinosteroids promote root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 133 (3): 1261-1271.
- Nakashita, H., Yasuda, M., Nitta, T., Asami, T., Fujioka, S., Arai, Y., Sekimata, K., Takatsuto, S., Yamaguchi, I., Yoshida, S. (2003) Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *The Plant Journal*, 33: 887-898.

- Normas para Produção de Muda Fiscalizada de Citros no Estado de São Paulo (1999) Portaria CDSV-2, de 20 de janeiro de 1999. *Laranja*, Cordeirópolis, 20 (2): 505-520.
- Núñez, N., Mazzafera, P., Mazorra, L.M., Siqueira, W.J., Zullo, M.A.T. (2003/4) Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. *Biologia Plantarum*, 47(1): 67-70.
- Oliveira, A.A.R., Weber, O.B., Silva, A.C.G.M.da. (1992) Micorrização e crescimento de porta-enxertos de citros em função de inóculos micorrízicos vesículo-arbusculares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 27(7): 1049-1056.
- Orika Ono, E., Nakamura, T., Machado, S.R., Rodrigues, J.D. (2000) Application of brassinosteroid to *Tabebuia alba* plants. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 12 (3): 187:194.
- Özdemir, F., Bor, M., Demiral, T., Türkan, I. (2004) Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 00: 1-9.
- Panzani, C.R., Prates, H.S., Greve, A. (1994) Sistema de produção de muda certificada de citros no estado de São Paulo. *Laranja*, Cordeirópolis, 15 (1): 169-172.
- Pereira, J.F., Marinho, C.S., Muniz, R.de.A., Lessa, G.B., Rodrigues, L.A., Carvalho, A.J.C.de. (2006) Crescimento da tangerineira 'sunki' submetida à micorrização e a diferentes doses de adubo de liberação lenta; [http://www.uenf.br/Uenf/Pages/Reitoria/11encontro/?&modelo=1&cod_pag=3460&tabela=&np=Resumos+\(formato+pdf\)&nc=Resumos+\(formato+pdf\)&buscaEdicao=&grupo=10encontro&p=#](http://www.uenf.br/Uenf/Pages/Reitoria/11encontro/?&modelo=1&cod_pag=3460&tabela=&np=Resumos+(formato+pdf)&nc=Resumos+(formato+pdf)&buscaEdicao=&grupo=10encontro&p=#) em 10/07/06.
- Perin, J.R., Carvalho, S.A., Mattos Junior, D., Cantarella, H. (1999) Efeitos de substratos e doses de fertilizante de liberação lenta no teor de clorofila e

- desenvolvimento vegetativo do limoeiro 'Cravo' em tubetes. *Laranja, Cordeirópolis*, 20 (2): 457-462.
- Prates, H.S.P., Guirado, N. (1993) O declínio dos citros no estado de São Paulo: uma revisão. *Laranja, Cordeirópolis*, 14 (1): 299-308.
- Pustovoitova, T.N., Zhdanova, N.E., Zholkevich, V.N. (2001) Epibrassinolide increases plant drought resistance. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 376 (1): 36-38.
- Ramos, A.C. (2005) *Papel da dinâmica do fluxo de prótons na sinalização das diferentes fases da interação micorrízica arbuscular*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, UENF, 108p.
- Rezende, L.de.P., Amaral, A.M.do., Carvalho, S.A.de., Souza, M.de. (1995) Volume de substrato e superfosfato simples na formação do limoeiro 'Cravo' em vasos. I- Efeitos no crescimento vegetativo. *Laranja, Cordeirópolis*, 16 (2): 165-177.
- Rezende, L.de.P., Amaral, A.M.do., Carvalho, S.A.de., Sobrinho, F.de.S., Souza, M.de. (1998) Volume de substrato e superfosfato simples na formação do limoeiro 'Cravo' em vasos. II- Efeitos no peso de matéria seca total, da parte aérea e do sistema radicular. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, 22 (4): 509-515.
- Rocha, M.R.da., Oliveira, E.de., Corrêa, G.de.C. (1994) Efeito de doses de fósforo e fungos MVA no crescimento e nutrição mineral da tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort ex Tan) em sementeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, 29(5): 725-731.
- Roddick, J., Rijkenberg, A.L., Ikekawa, N. (1993) Developmental effects of 24-epibrassinolide in excised roots of tomato growth in vitro. *Physiol. Plant.*, 87 (4): 453-458.
- Rodrigues, L.A. (2001) *Crescimento e absorção de nutrientes por plantas de Eucalyptus grandis e leguminosas em resposta à inoculação com fungos*

micorrízicos arbusculares e rizóbio. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, UENF. 101p.

- Rodrigues, L.A., Martins, M.A., Salomão, M.S.M.B. (2003) Uso de micorrizas e rizóbio em cultivo consorciado de eucalipto e sesbânia. I- Crescimento, absorção e transferência de nitrogênio entre plantas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27: 583-591.
- Rodríguez, C.R., Villalobosa, Y.I., Becerra, E.A., Manchadoa, F.C., Herrera, D.C., Zullo, M.A.T. (2003) Synthesis and biological activity of three new 5 α -hydroxy spirostanoic brassinosteroid analogues. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14 (3): 466-469.
- Ruiz, H.A., Miranda, J., Conceição, J.C.S. (1999) Contribuição dos mecanismos de fluxo de massa e de difusão para o suprimento de K, Ca e Mg a plantas de arroz. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23: 1015-1018.
- Ruiz-Lozano, J.M., Gómez, M., Azcón, R. (1995) Influence of different *Glomus* species on the time-course of physiological plant responses of lettuce to progressive drought stress periods. *Plant Science*, 110: 37-44.
- Ruiz-Lozano, J.M. (2003) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza*, 13: 309-317.
- Sasse, J.M. (1997) Recent progress in brassinosteroid research. *Physiologia Plantarum*, 100: 696-701.
- Schaller, F., Biesgen, C., Müssig, C., Altmann, T., Weiler, E.W. (2000) 12-oxophytodienoate reductase 3 (OPR3) is the isoenzyme involved in jasmonate biosynthesis. *Planta*, 210: 979-984.
- Scivittaro, W.B., Oliveira, R.P.de., Morales, C.F.G., Radmann, E.B. (2004a) Adubação nitrogenada na formação de porta-enxertos de limoeiro 'Cravo' em tubetes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 26 (1): 131-135.

- Scivittaro, W.B., Oliveira, R.P.de., Radmann, E.B. (2004b) Doses de fertilizante de liberação lenta na formação do porta-enxerto 'Trifoliata'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 26 (3): 520-523.
- Sena, J.O.A.de., Labate, C.A., Cardoso, E.J.B.N. (2002) Micronutrient accumulation in mycorrhizal citrus under different phosphorus regimes. *Acta Scientiarum*, Maringá, 24 (5): 1265-1268.
- Sena, J.O.A., Labate, C.A., Cardoso, E.J.B.N. (2004) Caracterização fisiológica da redução de crescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 28: 827-832.
- Serrano, L.A.L., Marinho, C.S., Carvalho, A.J.C.de., Monnerat, P.H. (2004) Efeito de sistemas de produção e doses de adubo de liberação lenta no estado nutricional de porta-enxerto cítrico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 26 (3): 524-528.
- Shimada, Y., Goda, H., Nakamura, A., Takatsuto, S., Fujioka, S., Yoshida, S. (2003) Organ-specific expression of brassinosteroid-biosynthetic genes and distribution of endogenous brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 131: 287-297.
- Sieverding, E. (1991) *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Eschborn:GTZ, 371p.
- Silva, R.P.da., Souza, E.dos.S., Rebouças, F.S., Almeida, W.A.B.de. (2005) Otimização de protocolos para regeneração de plantas in vitro de tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort ex Tan.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 27 (3): 484-487.
- Smith, S.E., Smith, F.A., Jakobsen, I. (2003) Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, 133: 16-20.
- Souza, P.V.D.de., Berjon, M.A., Orenge, V.A., Fonfría, M.A. (1997) Desenvolvimento do citrange "Troyer" infectado com fungo micorrízico, em dois

substrato de cultivo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 32 (10): 1039-1045.

Souza, P.V.D.de., Carniel, E., Schmitz, J.A.K., Silveira, S.V.da. (2005) Influência de substratos e fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento vegetativo do porta-enxerto Flying dragon (*Poncirus trifoliata*, var. Monstruosa Swing.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 27 (2): 285-287.

Stuchi, E.S., Donadio, L.C., Sempionato, O.R., Perecin, D. (2004) Produtividade e qualidade dos frutos da laranjeira 'Pera' clone IAC em 16 porta-enxertos na região de Bebedouro, SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 26 (2): 359-362.

Sugiyama, K., Kuraishi, S. (1989) Stimulation of fruit set of 'Morita' navel orange with brassinolide. *Acta Horticulturae*, 239: 345-348.

Szekeres, M., Németh, K., Koncz-Kálmán, Z., Mathur, J., Kauschmann, A., Altmann, T., Rédei, G.P., Nagy, F., Schell, J., Koncz, C. (1996) Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in Arabidopsis. *Cell*, 85: 171-182.

Takatsuto, S. (1994) Brassinosteroids: distribution in plants, bioassays and microanalysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 658: 3-15.

Teófilo Sobrinho, J., Figueiredo, J.O.de. (1984) Diversificação do uso de porta-enxertos na citricultura paulista. *Laranja*, Cordeirópolis, 5: 403-417.

Toledo, A.R.M., Giroto, L.F., Souza, M. (1997) Efeito de substratos na formação de mudas de laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Pera Rio) em vaso. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 21 (1): 29-34.

Tominaga, R., Sakurai, N. (1996) Brassinolide induces vacuolar H⁺-ATPase activation and stem elongation. *Plant Cell Physiology*, 37: 152.

Vázquez, M.C.N., Rodríguez, C.M.R. (2000) *Brasinoesteroides: nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la*

agricultura. Documento Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Campinas, 68, 83p.

Vichiato, M. (1996) *Influência da fertilização do porta-enxerto tangerineira (Citrus reshni Hort. ex Tan. cv. Cleópatra) em tubetes, até a repicagem*. Tese (Mestrado em Agronomia) Lavras - Universidade Federal de Lavras, UFLA, 82p.

Vichiato, M., Souza, M.de., Amaral, A.M.do., Medeiros, M.R.de., Ribeiro, W.G.R. (1998) Desenvolvimento e nutrição mineral da tangerineira Cleópatra fertilizada com superfosfato simples e nitrato de amônio em tubetes até a repicagem. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 22 (1): 30-41.

Vitória, D.P., Donadio, L.C., Stuchi, E.S. (2002) Efeito de doses de nitrogênio e potássio sobre a produção de mudas de laranja 'Pera' (*Citrus sinensis* L. Osbeck) sobre porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.). In: Congresso Brasileiro de fruticultura, 17. *Anais...*Belém: SBF, 1CD-ROM.

Weber, O.B., Oliveira, A.A.R., Magalhães, A.F.de.J. (1990) Adubação orgânica e inoculação com *Glomus etunicatum* em porta-enxertos de citros. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, 14: 321-326.

Weber, O.B. (1993) Produção de mudas cítricas micorrizadas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, 15 (2): 73-78.

Wu, Q.S., Xia, R.X. (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163: 417-425.

Yokota, T. (1997) The structure biosynthesis and function of brassinosteroids. *Trends Plant Science*, 2 (4): 137-143.

Zullo, M.A.T., Adam, G. (2002) Brassinosteroid phytohormones - structure, bioactivity and applications. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. Campinas, 14 (3): 143-181.

Quadro 1A. Dados da temperatura média mensal (°C), temperatura máxima e temperatura mínima mensal no município de Campos dos Goytacazes – RJ, durante o período de condução do experimento, obtidos na Estação Evapotranspirométrica da UENF (convênio UENF-PESAGRO-RIO)

2005/2006	Tmédia	Tmáx	Tmín
Julho	19,6	25,1	15,5
Agosto	21,4	28,1	16,8
Setembro	21,3	25,7	18,1
Outubro	24,0	29,9	20,0
Novembro	22,7	27,2	19,6
Dezembro	23,8	28,6	20,1
Janeiro	-	-	22,6
Fevereiro	-	-	23,4
Março	-	-	21,6
Média	22,1	27,4	19,7

Quadro 2A. Dados da temperatura média (°C), temperatura máxima e temperatura mínima no município de Campos dos Goytacazes – RJ, nos dias da aplicação do Biobras-16, obtidos na Estação Evapotranspirométrica da UENF (convênio UENF-PESAGRO-RIO)

2005/2006	Tmédia	Tmáx	Tmín
11/08/05	20,6	25,2	18,1
26/08/05	19,7	21,5	18,1
12/09/05	23,2	30,4	16,6
29/09/05	18,9	22,0	17,1
14/10/05	25,4	33,2	19,8
29/10/05	24,5	29,0	21,3
23/11/05	23,7	28,4	19,8
13/12/05	21,7	25,1	19,6
02/01/06	-	-	22,5
22/01/06	-	-	21,5
11/02/06	-	-	24,0
03/03/06	-	-	25,0
Média	22,2	26,9	20,3

Quadro 3A. Dados da umidade relativa média (%), umidade relativa máxima e umidade relativa mínima mensal no município de Campos dos Goytacazes – RJ, durante o período de condução do experimento, obtidos na Estação Evapotranspirométrica da UENF (convênio UENF-PESAGRO-RIO)

2005/2006	URmédia	URmáx	URmín
Julho	82,8	99,8	51,0
Agosto	80,2	99,9	42,9
Setembro	82,4	99,4	56,3
Outubro	78,0	98,9	47,0
Novembro	83,8	99,2	57,8
Dezembro	80,3	99,6	54,8
Janeiro	-	-	-
Fevereiro	-	-	-
Março	-	-	-
Média	81,3	99,5	51,6

Quadro 4A. Dados da umidade relativa média (%), umidade relativa máxima e umidade relativa mínima no município de Campos dos Goytacazes – RJ, nos dias da aplicação do Biobras-16, obtidos na Estação Evapotranspirométrica da UENF (convênio UENF-PESAGRO-RIO)

2005/2006	URmédia	URmáx	URmín
11/08/05	81,8	100,0	56,7
26/08/05	88,4	100,0	67,3
12/09/05	71,2	99,9	38,0
29/09/05	87,4	99,4	65,5
14/10/05	72,7	100,0	32,7
29/10/05	83,2	100,0	57,0
23/11/05	84,2	100,0	56,6
13/12/05	88,1	100,0	64,0
02/01/06	-	-	-
22/01/06	-	-	-
11/02/06	-	-	-
03/03/06	-	-	-
Média	82,1	99,9	54,7

Quadro 5A. Dados da radiação solar ($W m^{-2}$) no município de Campos dos Goytacazes – RJ, durante o período de condução do experimento, obtidos na Estação Evapotranspirométrica da UENF (convênio UENF-PESAGRO-RIO)

2005/2006	Rs
Julho	152
Agosto	201
Setembro	163
Outubro	238
Novembro	240
Dezembro	242
Janeiro	-
Fevereiro	-
Março	-
Média	206

Quadro 6A. Dados da radiação solar ($W m^{-2}$) no município de Campos dos Goytacazes – RJ, nos dias da aplicação do Biobras-16, obtidos na Estação Evapotranspirométrica da UENF (convênio UENF-PESAGRO-RIO)

2005/2006	Rs
11/08/05	187
26/08/05	56
12/09/05	264
29/09/05	113
14/10/05	293
29/10/05	156
23/11/05	250
13/12/05	247
02/01/06	-
22/01/06	-
11/02/06	-
03/03/06	-
Média	196



Figura 1A. Plantas de tangerineira 'Cleópatra' aos 130 dias após a sementeira. Campos dos Goytacazes-RJ, 2005.



Figura 2A. Plantas de tangerineira 'Cleópatra' após a repicagem. Campos dos Goytacazes-RJ, 2006.



Figura 3A. Plantas de tangerineira 'Cleópatra' aos 125 dias após a repicagem. Campos dos Goytacazes-RJ, 2006.