

AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E DO CONTROLE DA
MANCHA ANGULAR EM FEIJOEIRO PULVERIZADO COM
BIOFERTILIZANTES LÍQUIDOS

MILTON SÉRGIO DORNELLES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
DEZEMBRO – 2005

AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E DO CONTROLE DA
MANCHA ANGULAR EM FEIJOEIRO PULVERIZADO COM
BIOFERTILIZANTES LÍQUIDOS

MILTON SÉRGIO DORNELLES

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 Doutor em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Fábio Cunha Coelho

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
DEZEMBRO – 2005

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela biblioteca do CCTA / UENF 008/2006

Dornelles, Milton Sérgio

Avaliação do estado nutricional e do controle da mancha angular em feijoeiro pulverizado com biofertilizantes líquidos / Milton Sérgio Dornelles. – 2005.

133 f.: il.

Orientador: Fábio Cunha Coelho

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2005.

Bibliografia: f. 99 -113.

1. Biofertilizante 2. Pulverização foliar 3. Nutriente 4. Mancha angular 5. *Phaseolus vulgaris* L. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD–635.652896

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citado o autor”

AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E DO CONTROLE DA
MANCHA ANGULAR EM FEIJOEIRO PULVERIZADO COM
BIOFERTILIZANTES LÍQUIDOS

MILTON SÉRGIO DORNELLES

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 Doutor em Produção Vegetal.

Aprovada em 20 de dezembro de 2005

Comissão Examinadora:

Prof^a. Janie Mendes Jasmim (D.S., Produção Vegetal) - UENF

Prof. Silvaldo Felipe da Silveira (D.S., Fitopatologia) - UENF

Prof. Antônio Carlos de Souza Abboud (D.S., Biology) - UFRRJ

Prof. Fábio Cunha Coelho (D.S., Fitotecnia) - UENF
Orientador

*Á minha querida esposa Lane
Aos meus pais Luiz e Gercir
Aos meus irmãos Paulo,
Lauri, Vanderlei, Sidnei,
Gilnei, Volmir, Marli
e Marlene
Aos meus sogros Valcenir e Laurinete
Aos meus cunhados Gilcimar,
Marcos e Mônica*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela presença e proteção constante em minha vida e pela graça concedida para cumprir esta grande etapa.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e à UENF, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Dr. Fábio Cunha Coelho, pela orientação e apoio em todos os momentos do curso.

Ao professor Dr. Silvaldo Felipe da Silveira, pela co-orientação, pelas sugestões na defesa do Projeto de Tese e na defesa desta Tese de Doutorado e pelo espaço no laboratório de Patologia de Plantas para realização de experimentos.

À professora Dra. Janie Mendes Jasmim, pelo aconselhamento e sugestões na defesa do Projeto de Tese e na defesa desta Tese de Doutorado.

À professora Dra. Cláudia Sales Marinho, pelas sugestões na defesa do Projeto de Tese de Doutorado.

Ao professor Dr. Antônio Carlos de Souza Abboud, pelas críticas e sugestões na defesa desta Tese de Doutorado.

Aos professores das disciplinas cursadas do Curso de Produção Vegetal da UENF, pelas informações repassadas.

Aos professores da UENF, Dr. Henrique Duarte Vieira, Dr. Eliemar Compostrini e Dr. Edenio Detmann, pela avaliação e aprovação no Exame de Qualificação para o Doutorado.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Professor Antônio Teixeira do Amaral Júnior, pela atenção e acompanhamento durante o curso.

Ao Professor Dr. Pedro Henrique Monnerat, pelo uso do espaço e equipamentos do Laboratório de Fitotecnia - Nutrição Mineral de Plantas da UENF.

Ao Pesquisador Dr. Aloísio Sartorato, da EMBRAPA-CNPAP, pelas sugestões sobre o cultivo do fungo *Phaeoisariopsis griseola*.

Ao Professor Ph.D. Don M. Huber, do Departamento de Botânica e Patologia de Plantas da Universidade de Purdue - USA, pelo material bibliográfico enviado para o Projeto de Tese.

Ao Professor Dr. Antônio E. Boaretto, do centro de Energia Nuclear de Agricultura, da Universidade de São Paulo, pelo material bibliográfico enviado para o Exame de Qualificação.

Ao Professor Dr. Ricardo Enrique Bressan-Smith, pelo uso do espaço e equipamentos do Laboratório de Fisiologia Vegetal da UENF.

Aos professores das disciplinas cursadas, pelas informações repassadas.

Ao Técnico de Nível Superior da UENF Eng. Agrº. M.Sc. Vicente Mussi, pelas instruções nos experimentos com a doença Mancha Angular do feijoeiro.

Ao Técnico de Nível Superior da UENF Eng. Agrº. M.Sc. Herval Martinho pela contribuição durante a realização dos experimentos de campo.

Ao Técnico de Nível Superior da UENF Eng. Agrº. Márcio, pela contribuição durante a realização dos experimentos.

Ao Técnico de Nível Superior da UENF Eng. Químico José Acácio, pelas instruções durante as análises de nutrientes no laboratório.

Aos Técnicos Agrícolas Jader e Romildo, pela imensa contribuição durante a realização dos experimentos de casa-de-vegetação e de campo, respectivamente.

Aos demais funcionários da UENF, pelas contribuições na condução dos experimentos.

Às funcionárias da Pós-Graduação em Produção Vegetal, Luciana, Fátima e Patrícia, pela disponibilidade e ajuda durante o curso.

Às funcionárias da biblioteca do CCTA, Luciane, Jovana, Conceição e Vângela, pela atenção dada ao empréstimo de livros e consultas bibliográficas.

Aos amigos e colegas Marcos Aurélio, Gilcimar, Valceny, Geraldo Gravina, Bastiani, José Milton, Cássia, Edson, Flávia, Ernando, Adelmo, Romano, Jolimar, Romano, Leandro, Francisco, Alexandre, Patrícia, Ernany, Raul, Anderson, Flávio, Sheila, Carlos Gava, Anselmo, Susana, Selma, Lena, Glória, pelo agradável convívio e amizade.

Aos demais colegas, professores e funcionários que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Milton Sérgio Dornelles, filho de Luiz Dornelles e Gercir Dornelles, nascido em Erebango, distrito de Getúlio Vargas, Rio Grande do Sul, aos 30 dias de outubro de 1970.

Em julho de 1978 sua família se mudou para Nova Xavantina, Mato Grosso.

Em fevereiro de 1980 iniciou a primeira série do 1º Grau na Escola Municipal da Comunidade do Cachoeira. No ano seguinte se mudou para a Escola Estadual Coronel Vanique, em Nova Xavantina, MT. Lá estudou da segunda a sexta série do 1º Grau.

Em 1986, trancou a matrícula na Escola Estadual Coronel Vanique, onde ficou sem estudar ainda os anos de 1987 e 1988.

Em fevereiro de 1989 ingressou na Escola Estadual Juscelino Kubitschek e cursou a sétima e a oitava série do 1º Grau.

Em fevereiro de 1991 iniciou o curso de Técnico em Agropecuária, pela Escola Agrotécnica Federal de Rio Verde – GO.

Em dezembro de 1993 recebeu o título de Técnico em Agropecuária, conferido pela Escola Agrotécnica Federal de Rio Verde – GO.

Em março de 1994 iniciou o curso de Agronomia, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em maio de 1999 recebeu o título de Engenheiro Agrônomo, conferido pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em março de 1999 iniciou o curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, em nível de Mestrado, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Em setembro de 2000 recebeu o título de Mestre em Produção Vegetal pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Em agosto de 2000 iniciou o curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, em nível de Doutorado, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Aspectos da absorção foliar de nutrientes	3
2.1.1. Importância	3
2.1.2. Características físico-químicas da cutícula da folha	4
2.1.3. Mecanismos de penetração cuticular	5
2.1.4. Características físico-químicas da solução	8
2.1.5. Fatores do ambiente	10
2.2. Biofertilizantes líquidos	11
2.3. Utilização de biofertilizantes líquidos em plantas	13
2.4. Biofertilizantes líquidos na cultura do feijoeiro	16
2.5. Biofertilizante como agente indutor de resistência sistêmica	16
2.6. Resistência induzida de plantas	17
2.7. Efeito dos nutrientes sobre a ocorrência de doenças de plantas	19
2.8. A Mancha angular do feijoeiro	22

CAPÍTULO I

EFEITO DA PULVERIZAÇÃO FOLIAR DE BIOFERTILIZANTES E SOLUÇÕES FERTLIZANTES SOBRE OS TEORES DE NUTRIENTES FOLIARES E O RENDIMENTO DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1. Local dos experimentos	28
2.2. Produção de duas formulações de biofertilizantes	29
2.3. Experimentos em casa-de-vegetação	31
2.3.1. Tratamentos e delineamento experimental	31
2.3.2. Condições de cultivo e aplicação dos tratamentos	31
2.3.3. Variáveis analisadas	34
2.3.3.1. Teores de nutrientes nas folhas de feijão	34
2.3.3.2. Teores de nutrientes nos biofertilizantes líquidos	35
2.3.3.3. Especificação química dos nutrientes nas formulações	35
2.3.4. Hipóteses e modelo estatístico (Yassin, 2001)	37
2.3.5. Análise estatística	37
2.4. Experimento de campo	39
2.4.1. Tratamentos e delineamento experimental	39
2.4.2. Condições de cultivo e aplicação dos tratamentos	39
2.4.3. Variáveis analisadas	41
2.4.4. Hipóteses e modelo estatístico (Stell & Torrie, 1997)	42
2.4.5. Análise estatística	43
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.1. Efeitos sobre o teor foliar de macronutrientes	44
3.1.1. Experimento em casa-de-vegetação (cv. BRS Valente)	44
3.1.2. Experimento de campo (cv. Paina)	49
3.2. Efeitos sobre o teor foliar de micronutrientes	56
3.2.1. Experimento em casa-de-vegetação (cv. BRS Valente)	56
3.2.2. Experimento de campo (cv. Paina)	64
3.3. Efeitos sobre os caracteres fitotécnicos (casa-de-vegetação e campo)..	66
4. CONCLUSÃO	71

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E DO CONTROLE DA MANCHA ANGULAR (*Phaeoisariopsis griseola*) PELA APLICAÇÃO FOLIAR DE BIOFERTILIZANTE LÍQUIDO EM FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

1. INTRODUÇÃO	72
2. MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1. Local dos experimentos	75
2.2. Isolamento, produção e armazenamento de <i>Phaeoisariopsis griseola</i> ...	75
2.3. Meio de cultura MPI (Silveira, 1967, com modificações)	75
2.4. Inibição da germinação de esporos	76
2.5. Experimento em condições controladas	77
2.6. Experimento em condições de campo	79
2.7. Análise estatística	81
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
3.1. Inibição da germinação de esporos	82
3.2. Experimento em condições controladas	86
3.3. Experimento em condições de campo	90
4. CONCLUSÃO	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
APÊNDICE	114
APÊNDICE A	115
APÊNDICE B	124

RESUMO

DORNELLES, Milton Sérgio, M.S., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, dezembro, 2005. Avaliação do estado nutricional e do controle da mancha angular em feijoeiro pulverizado com biofertilizantes líquidos. Professor Orientador: Fábio Cunha Coelho. Professores Conselheiros: Silvaldo Felipe da Silveira, Janie Mendes Jasmim e Cláudia Sales Marinho.

Foram conduzidos dois experimentos de laboratório, dois em casa de vegetação e um experimento de campo com o objetivo de avaliar os efeitos da pulverização foliar de biofertilizante líquido sobre o estado nutricional e sobre o controle da mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) do feijoeiro. Para isso foram produzidos dois biofertilizantes líquidos: um sem adição de minerais (BIO-SM) e outro com a adição de minerais (BIO-CM). Em dois experimentos de laboratório avaliou-se o efeito de cinco concentrações (0%, 5%, 10%, 20%, 50%) de BIO-SM e de BIO-CM sobre a inibição da germinação de esporos de *P. griseola* em meio líquido salino a 0,8%. Em casa-de-vegetação também foram realizados dois experimentos. No primeiro, avaliou-se o teor foliar de nutrientes de planta de feijão após a aplicação foliar a 5% e a 20% de três biofertilizantes (T₁ – BIO-SM, T₂ – BIO-CM e T₃ – BIO-CM esterilizado) e três soluções nutritivas (T₄ - solução formulada a partir dos minerais adicionados no T₂; T₅ - solução formulada a partir da concentração total dos nutrientes do T₂; T₆ - solução formulada a partir da concentração solúvel dos nutrientes do T₂) e um tratamento adicional como testemunha (água desionizada), além disso, também foi analisada a composição (concentração total e solúvel) e a especiação química (GEOCHEM PC) desses

biofertilizantes. O segundo experimento em câmara de nevoeiro foi em esquema de parcela subdividida 5x2x2+1, em que foram avaliadas (cv. Xamego) cinco concentrações (0; 2,5%; 5%; 10%; e 20%) de BIO-SM e de BIO-CM com dois intervalos de tempo entre a aplicação foliar do biofertilizante e a inoculação do patógeno (um dia e sete dias), além de um tratamento adicional (sem biofertilizante e não inoculado). O último experimento foi conduzido no campo, em um Neossolo Flúvico, em esquema fatorial 2x4, em que foram avaliados o BIO-SM e BIO-CM, em quatro concentrações (0; 5%; 10%; e 20%), em pulverizações foliares do feijoeiro (cv. Paina). Nos dois experimentos, de câmara de nevoeiro e de campo, avaliou-se a área abaixo da curva do progresso da severidade da mancha angular (AACPD) e no campo, ainda foi avaliado os caracteres fitotécnicos e nutrição da planta. Os resultados observados foram os seguintes: o BIO-CM aumentou a produção em 16% (270 kg ha⁻¹), o número de grãos por vagem e não influenciou as outras características fitotécnicas da cv. Paina, e os teores foliares de macronutrientes foram bastante variáveis, enquanto os teores de micronutrientes aumentaram com a dose aplicada, com melhores resultados a 10%; o BIO-SM reduziu a produção do feijoeiro e o número de vagens por planta da cv. Paina e as outras características fitotécnicas e teores de nutrientes não foram influenciados; na avaliação da inibição da germinação e controle da mancha angular, os dois biofertilizantes apresentaram baixo poder de inibição da germinação de esporos de *P. griseola in vitro*; a aplicação de BIO-CM reduziu pouco a severidade e a AACPD do feijoeiro contra *P. griseola*, em câmara de nevoeiro e no campo, no entanto, nessas condições, o BIO-SM aumentou a severidade e a AACPD, apresentando baixa correlação com os nutrientes, mas os dados foram bastante variáveis, em função do biofertilizante, da cultivar e do ambiente de cultivo; maior correlação com a redução da AACPD no campo foi observado para o Ca, Fe e Mn com aplicação de BIO-CM; o BIO-CM apresentou na sua composição química melhor resultado para a disponibilidade de micronutrientes, mas a aplicação foliar a 20% pode resultar em teores de Zn em excesso; a disponibilidade de N, P, K e S no BIO-CM foi baixa e os nutrientes Ca e Mg apresentaram-se parcialmente complexados com sulfato, fosfato, molibdato e com a matéria orgânica, portanto, mais pesquisas são necessárias para ajustar a composição química do biofertilizante, principalmente com relação à quantidade de cal hidratada e de sulfato de zinco adicionados no preparo do BIO-CM.

ABSTRACT

DORNELLES, Milton Sérgio, M.S., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, December, 2005. Evaluation of the state nutritional and of the control of the angular leaf spot in bean plant sprayed with liquid biofertilizer. Advisor: Fábio Cunha Coelho. Committee members: Silvaldo Felipe da Silveira, Janie Mendes Jasmim and Cláudia Sales Marinho.

It were led two laboratory experiments, two in greenhouse and a field experiment with the objective of evaluating the effects of the spray to foliar of liquid biofertilizer on the state nutritional and on the control of the angular leaf spot (*Phaeoisariopsis griseola*) of the bean plant. For that two liquid biofertilizer were produced: one without addition of minerals (BIO-SM) and other with the addition of minerals (BIO-CM). In two laboratory experiments the effect of five concentrations was evaluated (0%, 5%, 10%, 20%, 50%) of BIO-SM and of BIO-CM about the inhibition of the germination of spores of *P. griseola* in saline liquid middle to 0,8%. In greenhouse two experiments were also accomplished. In the first, it was evaluated the contents you of nutrients of bean plant after the application to foliar to 5% and 20% of three biofertilizer (T1 - BIO-SM, T2 - BIO-CM and T3 - sterilized BIO-CM) and three nutritious solutions (T4 - solution formulated starting from the minerals added in T2; T5 - solution formulated starting from the total concentration of the nutrients of T2; T6 - solution formulated starting from the soluble concentration of the nutrients of T2), an additional treatment as witness (water desionizada), besides, the composition was also analyzed (total and soluble concentration) and the

chemical speciation (GEOCHEM PC) of those biofertilizer. The second in greenhouse was in outline of split-plot 5x2x2+1, in that were appraised (cv. Xamego) five concentrations (0; 2,5%; 5%; 10%; and 20%) of BIO-SM and of BIO-CM with two intervals of time among the application to foliar of the biofertilizer and the inoculation of the pathogen (one day and seven days), over there an additional treatment (without biofertilizer and not inoculated). The last experiment was led in the field, in a Neossolo Flúvico, in factorial outline 2x4, in that were evaluated the BIO-SM and BIO-CM, in four concentrations (0; 5%; 10%; and 20%), in spray of the bean plant (cv. Paina). In the two experiments, of greenhouse and of field, the was evaluated area under the disease progress curve of the angular leaf spot (AACPD) and in the field, it was still evaluated the agronomics characteristics (AC) and nutrition of the plant. The observed results were the following ones: the BIO-CM increased the production in 16% (270 kg ha⁻¹) the number of grains for bean and it didn't influence the other AC of the cv. Paina, and the foliar contents of macronutrients were much variables, while the micronutrientes contents increased with the applied dose, with better results to 10%; the BIO-SM reduced the production of the bean plant and the number of beans for plant of the cv. Paina and the other AC and contents of nutrients were not influenced; in the evaluation of the inhibition of the germination and control of the angular leaf spot, the two biofertilizer presented low power of inhibition of the germination of spores of *P. griseola in vitro*; the application of BIO-CM reduced little the severity and AACPD of the bean plant to *P. griseola*, in greenhouse and in the field, however, in those conditions, the BIO-SM increased the severity and AACPD, presenting low correlation with the nutrients, but the data were much variables, in function of the biofertilizer, of cultivars and of the cultivation atmosphere; larger correlation with the reduction of AACPD in the field was observed for the Ca, Fe and Mn with application of BIO-CM; the BIO-CM presented in its chemical composition better result for the micronutrients availability, but application the foliar to 20% can result in contents of Zn in excess; the availability of N, P, K and S in the BIO-CM was low and the nutrients Ca and Mg, presented complexed partially with sulphate, phosphate, molibdate and with the organic matter, therefore, more researches are necessary to adjust the chemical composition of the biofertilizer, mainly with relationship to the amount of moisturized whitewash and of zinc sulphate added in the preparation of the BIO-CM.

1. INTRODUÇÃO

O feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L., é a leguminosa mais consumida no Brasil. A importância desse alimento se deve, principalmente, pelos altos teores de proteína e sais minerais e pelo baixo custo de produção, o que o torna, em geral, um alimento mais acessível à população.

Apesar de o Brasil ser o maior produtor e consumidor mundial de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), o que produz ainda não é o suficiente para a demanda interna, que atingiu 2,965 milhões de toneladas em 2004, com índice *per capita* de 16 kg hab⁻¹ ano⁻¹ (IBGE, 2004).

Para suprir essa demanda de feijão, dentre outras propostas, o Brasil poderia aumentar os subsídios à agricultura familiar, que tem como base a produção de alimentos da cesta básica, sendo o feijão um de seus componentes. Logo, investimentos em pesquisas adequadas à realidade da agricultura familiar, pode ser uma alternativa viável e importante para o desenvolvimento agrícola do Brasil. Segundo Assis et al. (1998), a agricultura familiar apresenta maior potencial de desenvolvimento, a partir de um enfoque agroecológico. Neste sentido, a produção de feijoeiro poderia ser viabilizada com o mínimo de insumos externos, ou seja, utilizando o máximo de recursos da propriedade agrícola, resultando em maior renda familiar; menor contaminação do homem do campo, dos consumidores e do meio ambiente.

Os biofertilizantes líquidos são insumos que estão dentro do contexto da agricultura do mínimo de insumos externos, e, portanto, poderão ser utilizados em cultivos orgânicos tanto na pequena quanto na grande propriedade agrícola.

Os biofertilizantes mais conhecidos no Brasil são o “Supermagro”, o “Vairo” e o “Agrobio” e a recomendação geral tem sido para controle de pragas e doenças e suplementação nutricional, em pulverizações foliares de fruteiras e hortaliças.

Há expectativa de sucesso com a utilização de biofertilizante em pulverizações foliares em feijoeiro, principalmente por ser uma cultura muito exigente em nutrientes durante seu ciclo e pelos diversos problemas fitossanitários apresentados, que muitas vezes, nem com a utilização de cultivares resistentes têm sido resolvidos. Logo, a adoção desta tecnologia poderá ser rápida, uma vez que a espécie é cultivada principalmente por produtores de baixa renda, com baixa condição financeira para comprar insumos industrializados para serem utilizados na adubação e no controle de pragas e doenças.

A hipótese a ser investigada é a possibilidade da pulverização foliar de biofertilizante líquido na cultura do feijoeiro e conferir à planta maior equilíbrio nutricional e aumento da capacidade natural de defesa contra pragas e doenças e, com isso, resultar em melhores resultados de produção. Não há pesquisa na literatura sobre o efeito da aplicação de biofertilizante líquido sobre a produção, o estado nutricional e o controle da Mancha angular do feijoeiro.

Com base no exposto, esse trabalho tem como objetivo principal, avaliar a biodisponibilidade de nutrientes em duas formulações de biofertilizantes anaeróbicos e os efeitos da sua pulverização via foliar, sobre o estado nutricional das plantas, o controle da mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e as características fitotécnicas da cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivada em condições de casa-de-vegetação e de campo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos da absorção foliar de nutrientes

2.1.1 Importância

Assim como as raízes, as folhas das plantas também têm capacidade de absorver nutrientes. Essa capacidade originou a prática da adubação foliar, em que soluções de nutrientes são pulverizadas sobre a parte aérea das plantas, atingindo principalmente as folhas.

A adubação foliar com micronutrientes apresenta-se atualmente como uma alternativa eficaz e econômica no controle de deficiência de nutrientes em cafeeiro, citros, maçã, pêra e outras plantas frutíferas perenes, podendo ser recomendada em programas de adubação, desde que haja controle das necessidades das plantas e a utilização de produtos específicos. Para alguns casos de culturas anuais e hortícolas, a adubação foliar corretiva ou complementar, a pesquisa mostrou bons resultados, podendo ser incluída nos programas de adubação (Boareto & Rosolem, 1989).

Desse modo, o conhecimento dos mecanismos fisiológicos e anatômicos envolvidos na penetração e absorção dos íons pelas plantas (Mengel, 2002; Schreiber, 2005), bem como das características químicas da solução e fatores do ambiente, são de extrema importância para se alcançar sucesso na prática da adubação foliar.

2.1.2 Características físico-químicas da cutícula da folha

Apesar de a folha não apresentar estruturas especializadas para absorção de nutrientes, ainda é o órgão da planta que tem merecido maior atenção dos pesquisadores, por ser a responsável pela maior quantidade de nutrientes absorvidos provenientes da pulverização foliar. Além da folha, outros órgãos como o pecíolo foliar, o fruto e o caule também podem absorver nutrientes.

A folha apresenta três tecidos, a epiderme (adaxial e abaxial), o mesófilo, e o vascular (xilema e floema). Da anatomia da folha, a epiderme é a estrutura que merece descrição mais detalhada, principalmente porque é revestida externamente pela cutícula, uma fina camada pouco permeável à água e a solutos, sendo, portanto, a principal barreira à penetração dos nutrientes provenientes da pulverização foliar. A cutícula da folha tem a função de proteger as células e os tecidos contra fatores adversos do ambiente; prevenir as células da perda excessiva de água e da lixiviação de nutrientes provocadas pela chuva (Bukovac et al., 1981), além de agir como barreira mecânica à penetração de insetos, fungos e bactérias (Juniper & Cox, 1973).

A epiderme é constituída por uma ou mais camadas de células, geralmente mais espessas na face adaxial (superior) que na abaxial (inferior), onde a camada cuticular é a parte normalmente mais grossa da epiderme. A cutícula consiste de esqueletos de celulose, incrustado com cutina, cera e pectina. Na camada externa, a cutícula é composta por polímeros de cutina e formas cristalina e amorfa de ceras (Schönherr & Baur, 1996; Marschner, 1995). Podem ser encontradas ceras cuticulares, que se misturam com polímeros de cutina (Jenks & Ashworth, 2003) e ceras epicuticulares, localizadas na superfície externa da cutícula (Schreiber, 2005). As ceras consistem de álcoois de cadeia longa, cetonas e ésteres ácidos gordurosos de cadeia longa (Marschner, 1995). A pectina é composta principalmente por polímeros de ácido galacturônico e está localizada próxima à base da cutícula, fazendo parte normalmente da constituição química da parede celular.

2.1.3 Mecanismos de penetração cuticular

Considerando que a permeabilidade da cutícula à água e às substâncias orgânicas aumenta (fatores de 10 a 1000 vezes) com a remoção das ceras, conclui-se que a principal barreira ao transporte cuticular é formada, em grande parte, por estas ceras cuticulares (Schönherr, 1976). A microestrutura da superfície cuticular influencia a molhabilidade, a deposição e a distribuição da calda pulverizada na superfície da folha. Como a cutícula foliar é formada por componentes hidrofóbicos (cera), semi-hidrofóbicos (cutina) e hidrofílicos (pectinas e celulose), a penetração de substâncias predominantemente polares ocorre, possivelmente via pectinas, e das não-polares ou predominantemente não-polares, via cutina e ceras.

Após a pulverização foliar, os nutrientes atravessam três principais barreiras até atingirem o interior da célula: 1. Passar pela cutícula; 2. Penetrar no apoplasto; e 3. Atravessar a membrana plasmática (Rosolem, 2002). Após atingirem o simplasto, os nutrientes são utilizados pela planta. Entretanto, a natureza físico-química dessa trajetória, via cutícula, ainda está pouco esclarecida.

A permeabilidade da cutícula a moléculas lipofílicas pode apresentar a seguinte ordem decrescente de lipofilicidade: cera > cutina > pectina. A permeabilidade a moléculas lipofílicas (como herbicidas, pesticidas e outros xenobióticos) foi bem estudada e existem diversas evidências para explicar o movimento através da cutícula (Schönherr & Riederer, 1989; Niederl et al., 1998; Schreiber, 2005). No entanto, pouca tem sido a atenção da pesquisa para a permeabilidade da cutícula a solutos inorgânicos (nutrientes), apesar da importância prática que a adubação foliar representa para a agricultura.

Recentemente, Schreiber (2005) postulou hipóteses físico-químicas para explicar duas rotas da permeabilidade da cutícula a diferentes tipos de substâncias (iônicas polares, íons inorgânicos e moléculas orgânicas carregadas), a rota de difusão lipofílica e a rota de difusão polar (Schönherr, 2000, 2001, 2002a; Schönherr & Luber, 2001; Schönherr & Schreiber, 2004).

Na rota de difusão lipofílica, a permeabilidade da cutícula a substâncias não-iônicas (como herbicidas, pesticidas e outros xenobióticos) é dependente de dois fatores da membrana cuticular, a mobilidade e a lipofilicidade. A mobilidade

descreve o processo de difusão de substâncias (coeficiente de difusão) e o principal fator limitante é o tamanho das moléculas (Buchholz et al., 1998), de forma que o aumento do peso molecular resulta a diminuição da mobilidade, mas pode ser significativamente aumentada pela adição de aceleradores lipofílicos, que são substâncias que aumentam a fluidez da cutícula e de ceras amorfas, aumentando as taxas de difusão das moléculas não-iônicas que têm acesso a essa fase. A lipofilicidade descreve a solubilidade dessas substâncias que penetram a cutícula, medindo o coeficiente de partição entre a cutícula da planta e a fase aquosa adjacente (Schönherr & Riederer, 1989). Por outro lado, substâncias polares como os solutos (Ex. Ca^{++}) ou moléculas orgânicas carregadas (Glyphosate) podem apresentar uma rota alternativa de penetração cuticular (poro hidrofílico - um poro aquoso polar). Esta via alternativa foi proposta sabendo-se que moléculas carregadas difundem-se pela cutícula, mas como elas apresentam uma camada de hidratação, que não são rompidas facilmente e não são solúveis na matriz lipídica da cutícula, em tese não seria possível a penetração pela rota lipofílica (Schreiber, 2005). Os locais e a natureza da trajetória dos íons absorvidos via cutícula ainda está pouco esclarecido, mas algumas evidências experimentais indicam a existência de uma via alternativa. Algumas hipóteses têm sido propostas, mas futuros trabalhos serão necessários para esclarecer essa questão (Schreiber, 2005).

A camada de hidratação é formada pelo fato de os nutrientes inorgânicos serem fortes eletrólitos e altamente solúveis em água, mas são praticamente insolúveis em solventes orgânicos. A energia livre de interação entre um íon e uma molécula de água é de aproximadamente 167 kJ mol^{-1} (Schönherr, 2002b), sendo 20 vezes maior que uma interação dipolo-dipolo envolvendo pontes de hidrogênio (Stein, 1967). Devido a isso, enorme quantidade de energia está envolvida em todas as interações iônicas. Isto significa que, para ocorrer penetração do sal e do íon através de membranas lipídicas é necessária a presença de poros hidrofílicos. Nas membranas celulares estes poros são formados por proteínas de transporte transmembrana, dentro de uma dupla camada fosfolipídica (Taiz & Zeiger, 2000), no entanto, até o momento, essas proteínas de transporte nunca foram encontradas na matriz cuticular e por essa razão, deveriam ser teoricamente impermeáveis a íons hidratados (Schlegel & Schönherr, 2002).

Os poros hidrofílicos estão presentes ao longo da parede celular epidérmica externa de folhas e frutos. Apresentam diâmetro menor que 1 nm e densidade de aproximadamente 10^{10} poros por cm^2 de cutícula (10 bilhões de poros cm^{-2}) (Marschner, 1995; Schönherr, 2002b). O raio dos poros hidrofílicos da cutícula de *Citrus aurantium*, por exemplo, foi 0,45nm, que é de aproximadamente do tamanho de uma molécula de glicose (Schönherr, 1976). Esta estimativa é um valor inferior ao tamanho médio, assim como poros maiores provavelmente existem, mas a distribuição do tamanho desses poros não tem sido estudada.

Estes poros podem ser realmente permeáveis a solutos tais como uréia (raio de 0,44nm), mas não a grandes moléculas como quelatos sintéticos (ex. FeEDTA). A densidade de poros da cutícula é maior nas proximidades das células guarda, o que explica a correlação positiva observada entre o número de estômatos e a absorção foliar de nutrientes (Levy & Horesh, 1984). Além disso, os poros da cutícula, presentes ao redor das células guarda e na base dos tricomas, parecem ter maior permeabilidade e habilidade na absorção de grandes moléculas de solutos (Schönherr & Bucovac, 1978), mas alguns gases como CO_2 , SO_2 e NH_3 , o acesso é livre e podem também penetrar os estômatos das folhas (Marschner, 1995).

É improvável que a penetração direta de solutos na superfície da folha por intermédio de estômatos abertos represente um papel importante, porque uma camada cuticular (a cutícula interna) também cobre a superfície das células guarda nas cavidades dos estômatos. Além disso, a taxa de absorção iônica pela pulverização foliar é usualmente maior à noite, quando os estômatos estão fechados, do que durante o dia, quando os estômatos estão abertos (Almeida et al., 2000). Para tanto, sabe-se que os estômatos protegem a planta da perda de água e de solutos (Schönherr & Bukovac, 1972) e isso, pode levar a acreditar que a penetração cuticular pode ser a principal via de absorção, mas ainda é preciso mais pesquisas para comprovação científica das hipóteses.

Contudo, sabe-se que a absorção foliar de solutos ocorre ou pela penetração via cutícula foliar ou pelos estômatos (Eichert et al., 2002). Burkhardt & Schroth (2000) conduziram experimentos de campo com plantas de *Citrus sinensis*, *Bixa orellana* e *Hevea brasiliensis*, testando diferentes concentrações de ^{15}N marcado como NaNO_3 e K_2HPO_4 , via foliar e foram aplicados ou durante o dia (estômatos abertos) ou logo após o pôr-do-sol (estômatos fechados). Foi

observada uma absorção significativamente alta de 15 nitrato para o tratamento de dia comparado ao tratamento da noite, sugerindo que absorção via estômato foi um fator importante de absorção global de N nas folhas e que o fechamento dos estômatos durante a noite impediu a absorção de íons.

Em outro estudo, Schlegel & Schönherr (2002), investigaram o papel dos estômatos na penetração foliar de CaCl_2 em superfícies de folhas com e sem estômatos. Observaram que o cloreto de cálcio penetrou através dos estômatos na superfície foliar das quatro espécies de plantas testadas, enquanto os estômatos da superfície superior (abaxial) de folhas de maçã e de pêra (sem estômatos) foram essencialmente impermeáveis.

2.1.4 Características físico-químicas da solução

De acordo com Chamel et al. (1979) a cutícula apresenta propriedades específicas que favorecem a retenção de cátions, principalmente em pH acima de 3,0 (ponto de carga zero igual a 3). Isso acontece porque há aumento do número de cargas negativas na cutícula (Schönherr & Huber, 1977), como resultado da dissociação de grupamentos carboxílicos (COOH) da parede celular durante adsorção de cátions. Essas cargas negativas podem estar relacionadas com o número de poros hidrofílicos da cutícula. Schönherr (2002b), observou que o aumento do pH da solução de três para nove a densidade de poros apresentava aumento de 3 vezes (5×10^{10} para $16 \times 10^{10} \text{ cm}^{-2}$ de membrana).

As soluções têm sido preparadas com pH bastante variável (3,0 a 10,0) dependendo do nutriente em si, do íon acompanhante e da espécie de planta pulverizada (Rosolem, 2002). Melhor absorção foliar de uréia pode ser observada na faixa de pH entre 5 a 8 (Camargo & Silva, 1975). Reed & Tukey (1978) encontraram máxima absorção de P em folhas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) com pH 3-6 para fosfato de sódio e pH 7-10 para fosfato de potássio. Para a maioria das fontes de potássio pH 4-7 (Chang & Oosterhuis, 1995, citado por Rosolem, 2002). Lidster et al. (1979) observaram máxima absorção de Ca^{+2} (CaCl_2) em frutos de cereja (*Prunus avium* L.) com pH 7.

Para soluções multinutrientes, Primavesi (1981) recomenda pH em torno de 5,5, uma vez que soluções muito ácidas ou muito alcalinas podem causar fitotoxidez nas folhas, além de aumentar a retenção de cálcio na matriz cuticular

(Schönherr & Huber, 1977). Uma outra questão que deve ser levada em consideração no preparo de solução multinutrientes é a interação entre os nutrientes e estes com a matriz cuticular. Além do cálcio, o cobre, o zinco e o manganês também podem ser retidos na matriz cuticular, de modo que o cobre reduziu drasticamente a retenção de zinco, indicando maior seletividade da matriz cuticular pelo cobre, enquanto que o manganês foi completamente recuperado no líquido de lavagem de cutículas de folhas de pereira (Chamel & Gambonnet, 1982). Naseri et al. (2002) testaram efeitos isolados ou em combinação dos micronutrientes, boro, cobre e manganês, em aplicação foliar durante o crescimento de plantas de macieira. Observaram aumento significativo no teor de B, Cu e Mn nas folhas com a aplicação foliar separadamente de ácido bórico (1000 mg L^{-1}), sulfato de cobre (500 mg L^{-1}) e sulfato de manganês (1000 mg L^{-1}), respectivamente. No entanto, na aplicação desses micronutrientes misturados, observaram efeitos de sinergismo e antagonismo entre a absorção de B, Cu e Mn. As plantas mantiveram altos teores de Cu, mas não de B e Mn durante o período de crescimento, sendo necessário repetir várias vezes a aplicação foliar de B e Mn para o suprimento adequado da planta.

A adição de agentes molhantes, aceleradores e outros adjuvantes podem ajudar o processo de absorção de nutrientes pelas folhas. Estes produtos também são conhecidos como espalhantes ou ainda surfactantes, são detergentes que se colocam à solução de nutrientes, para diminuir a tensão superficial das gotículas aplicadas às folhas, e com isso, promover o seu espalhamento. Tornam-se benéficos quando diminuem a tensão superficial da solução das gotículas, diminuindo o ângulo de contato com a superfície da folha, proporcionando o seu umedecimento.

A velocidade de penetração pode ser aumentada quando um agente molhante é misturado à solução. Isto pode ser importante, porque a metade do tempo para ocorrer à penetração de CaCl_2 sem agente molhante é de 204 h, enquanto a adição de $0,2 \text{ g L}^{-1}$ de uma agente à mistura reduziu a metade do tempo para 17 h (Schönherr, 2002b). Parece que o agente molhante é necessário para criar acessos nos poros acessíveis aos íons hidratados. Os surfactantes Etoxilados são bons agentes molhantes, mas, devem ser evitados, porque muitos deles são fitotóxicos (Uhlig & Wissemeier, 2000). O Polioxietileno, por exemplo, complexa-se fortemente com cálcio e outros cátions divalentes (Cross, 1987).

Os agentes umectantes são substâncias que impedem a evaporação rápida da solução que se aplica à superfície foliar. É responsável também em manter os nutrientes em contato com a folha por mais tempo (estado iônico). Isto quer dizer que quanto maior o tempo para a solução nutriente permanecer em contato com a superfície da folha, maior será a absorção.

Essa hidratação da membrana cuticular é dependente do pH e da umidade relativa do ar (Riederer & Schönherr, 1995), sendo o principal fator determinante da taxa de penetração de fertilizantes nas membranas cuticulares de plantas (Schönherr, 2000b).

2.1.5 Fatores do ambiente

A velocidade de penetração cuticular de íons depende da umidade relativa do ar, pois antes mesmo da solução pulverizada atingir a superfície foliar inicia-se a perda de água por evaporação, sendo, portanto, diretamente relacionada com a umidade e a temperatura do ar. A solução de nutrientes em contato com a superfície da folha (adaxial ou abaxial), depois da evaporação da água, forma um resíduo salino hidratado sobre a cutícula da folha. Deste modo, a penetração de íons através da cutícula ocorre a partir deste resíduo (Schönherr, 2000b).

A partir desse princípio, experimentos foram conduzidos por Schönherr (2001) com objetivo de entender melhor os mecanismos envolvidos no processo de absorção foliar. Taxas de penetração de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ foram altas inicialmente e manteve-se constante com o tempo. Com umidade à 90% levou aproximadamente 18 h para que, 50% da dose aplicada penetrasse a membrana cuticular.

A velocidade de penetração pode ser quantificada por meio da taxa constante de primeira ordem ou a metade do tempo de penetração. A metade do tempo, $t_{1/2}$, pode ser calculada ($t_{1/2} = -\ln 0,5/k = 0,693/k$), onde k é a taxa constante de penetração de primeira ordem. Assim, a metade do tempo diminuiu de 46,2 h (50% de umidade) para 15,8 h (90% de umidade), obtendo um fator de 2,9 (46,2/15,8). Este fator indica que a velocidade de penetração de nitrato de cálcio em umidade do ar 90% é de aproximadamente três vezes maior que em umidade 50%. Isto mostra que a umidade do ar pode ser o principal fator de penetração

cuticular de nitrato de cálcio e outros sais inorgânicos (Schonherr, 2000b, 2001; Schonherr & Lubber, 2001).

Um outro fator que pode influenciar a taxa de penetração é a higroscopicidade do sal. Para que a penetração ocorra é necessária dissolução do sal, sendo, portanto, determinado pelo “*ponto de deliquescência*” (POD) do sal e a umidade do resíduo salino. POD é definido como aquela umidade da solução saturada por um sal que contém sal sólido, ou seja, a conversão de uma substância sólida em uma líquida como resultado da absorção de vapor d’água do ar. Quando a umidade relativa do ar estiver acima do POD, o resíduo de sal depositado sobre a cutícula fica dissolvido, enquanto que umidade abaixo do POD, forma um resíduo salino sólido e a penetração cuticular cessa (Schonherr & Lubber, 2001). Schonherr (2002b), testou quatro fertilizantes potássicos (POD: KCl = 86%; KNO₃ = 95%; KH₂PO₄ = 97%; K₂CO₃ = 44%) em membrana cuticular de pêra e observou que o K₂CO₃ apresentou as propriedades mais desejáveis, o menor POD, a maior solubilidade em água e o maior teor de K.

A temperatura não afeta significativamente a taxa constante de penetração da qual pode-se concluir que a penetração é mais rápida durante a noite quando a umidade é alta (Schonherr, 2001; Schonherr & Lubber, 2001; Schonherr, 2002b). Segundo Almeida et al. (2000), durante a aplicação foliar de uréia em feijoeiro às 20h não foram observados sintomas de fitotoxidez nas folhas, mesmo em concentração a 12%. No entanto, no horário das 8 h, a aplicação de uréia resultou em sintomas de fitotoxidez de leve a moderado, e no horário das 16 h, os sintomas foram mais acentuados.

Além desses fatores, deve-se considerar ainda a espécie e variedade da planta, a superfície e idade da folha, o estado nutricional e fase de desenvolvimento de planta.

2.2 Biofertilizantes líquidos

Por muito tempo os biofertilizantes líquidos eram obtidos por meio da produção de gás metano (biogás) em biodigestores. O objetivo principal era a produção de gás metano, utilizado para produzir energia. O biofertilizante era considerado um subproduto e o destino final normalmente era o solo, cultivado por pastagens ou culturas agrícolas. Esses biodigestores eram abastecidos com

esterco fresco de bovinos ou suínos misturados com água. No entanto, atualmente os biofertilizantes líquidos não são mais produzidos em biodigestores, mas em tambores de 200 litros. Nesse caso, o gás metano é liberado para a atmosfera e o líquido depois de filtrado é conhecido como biofertilizante líquido, que é utilizado em pulverizações foliares de diversas culturas agrícolas.

As pesquisas com biofertilizantes tiveram início na década de 90 (Santos, 1992; Magro, 1994), pelos resultados positivos observados no campo com a pulverização foliar de biofertilizante bovino anaeróbico, produzido pela mistura de esterco de bovino fresco e água (Santos, 1992) ou ainda com adição de minerais ao mesmo (Magro, 1994). A matéria prima básica utilizada no preparo dos biofertilizantes é o esterco fresco de animais ruminantes. Dependendo da formulação seguida, diversos outros componentes poderão ser adicionados à mistura, por exemplo: minerais, fígado de boi, leite ou soro de leite, açúcar mascavo ou melação de cana, farinha de osso, etc. Os principais minerais adicionados no preparo do biofertilizante Supermagro são: sulfato de zinco, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio, sulfato de manganês, sulfato de cobre, sulfato de cobalto, sulfato ferroso, ácido bórico e molibdato de sódio, além de cal hidratada (Magro, 1994; Três & Resende, 1995).

Não existe uma fórmula única para produção de biofertilizantes. Receitas variadas vêm sendo testadas por pesquisadores. As fórmulas mais conhecidas são: o biofertilizante “Supermagro” (Magro, 1994), o biofertilizante “Vairo” (Santos, 1992) e o biofertilizante Agrobio® (Fernandes, 2000). O “Supermagro” é um dos biofertilizantes mais difundidos e possivelmente o mais utilizado no Brasil. No Estado do Rio de Janeiro, o biofertilizante Agrobio® tem sido produzido em larga escala pela Pesagro-Rio e vendido a produtores, principalmente do Rio de Janeiro, além de ser também, produzido por produtores para seu uso próprio, em suas propriedades. As principais culturas tratadas com esses biofertilizantes líquidos são a cultura da macieira, do pessegueiro, da videira, dos citros, do cafeeiro, tomateiro, batata, hortaliças em geral e plantas ornamentais.

Durante aproximadamente 60 dias, microrganismos agem sobre a matéria orgânica e substâncias ali presentes, que por meio de reações bioquímicas transformam a matéria orgânica original, em um produto mais estável, aumentando a diversidade de microrganismos benéficos às plantas, liberando diversas substâncias, como enzimas, antibióticos, hormônios, vitaminas, fenóis,

ésteres e ácidos (Bettiol et al., 1998) e os nutrientes essenciais ao metabolismo vegetal. Após a fermentação que se dá de forma anaeróbica, além do gás produzido, tem-se o efluente que pode ser usado como biofertilizante líquido. Este biofertilizante é composto de substâncias orgânicas (ácidos orgânicos, álcoois, etc) e um *pool* de espécies de microrganismos (Oliveira et al., 1986).

Três etapas distintas podem estar envolvidas na transformação anaeróbica da matéria orgânica que ocorrem durante a produção do biofertilizante líquido: 1) a fase de hidrólise; 2) a fase ácida; e 3) a fase metanogênica.

Na primeira fase, bactérias anaeróbicas secretam enzimas hidrolíticas (lipases, proteases, celulasas, amilases, etc.), promovendo a hidrólise de polímeros de alto peso molecular (celulose, lignina, etc), transformando-os em moléculas solúveis de baixo peso molecular, tais como glicose e peptídeos. Na segunda fase, bactérias acetogênicas agem sobre moléculas de aminoácidos, carboidratos e gorduras, transformando-as em ácidos orgânicos (propiónico, acético, butírico, láctico, etc), etanol, amônia, hidrogênio e dióxido de carbono. E, na última fase, bactérias metanogênicas atuam sobre o hidrogênio (H₂), o dióxido de carbono (CO₂) e o acetato (CH₃COOH) transformando-os em gás metano (CH₄) (Santos, 1992).

2.3 Utilização de biofertilizantes líquidos em plantas

Há algumas décadas, a disposição recomendada do biofertilizante (efluente de biodigestores) era o solo, visando o fornecimento de nutrientes para as plantas e ativação de microrganismos do solo. Contudo, a partir da década de 90, passaram a ser utilizados em pulverizações foliares com objetivo duplo, para o controle de pragas e doenças (Castro et al., 1991; Medeiros, 2002) e como fertilizante foliar (Santos, 1992; Magro, 1994; Mcquilken et al., 1994).

Em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis*), Rocha et al. (2001), realizando pulverizações mensais com o biofertilizante Agrobio a 2%, observaram aumento significativo de 19 e 14%, no peso do fruto e na porcentagem da polpa, respectivamente. Entretanto, quando foi utilizada adubação química convencional, houve menor aumento no peso do fruto (15%) além de aumento na acidez dos frutos, em relação à aplicação de biofertilizante a 2%.

Em olericultura Fernandez et al. (2001), avaliaram o efeito da pulverização foliar semanal de Agrobio a 2% em alface, em sistema de cultivo protegido. Estes observaram maior peso das plantas quando foi utilizado Agrobio, comparado ao tratamento com adubação nitrogenada em cobertura (10 g sulfato de amônio por planta), e concluíram que o biofertilizante pode substituir a adubação nitrogenada em cobertura no cultivo da alface. Já na cultura da cebola, Vazquez et al. (1995) observaram que pulverizações de esterco fermentado em condições anaeróbicas, resultaram em aumento no rendimento dos bulbos e redução nos danos por pragas e doenças.

Resultados de pesquisas mostram que faixas de concentrações de biofertilizantes consideradas adequadas para o controle de pragas e doenças, podem estar acima das concentrações recomendadas para suprimento de nutrientes por via foliar. Tanaka (2001), avaliou a aplicação de quatro concentrações de biofertilizante (4%, 8%, 12% e 16%) na cultura do tomateiro, e observou que concentrações maiores que 4% de biofertilizante enriquecido com macro e micronutrientes, resultaram em sintomas de fitotoxicidade, enquanto, Tratch (1996) observou que concentrações acima de 10 e 20% foram necessárias para inibir completamente a germinação *in vitro* dos patógenos *Alternaria solani* e *Botrytis cinerea*, respectivamente. Em outro estudo, Vida et al. (1993) observaram eficácia no controle do Oídio (*Erysiphe polygoni*) de feijão-vagem com aplicação de biofertilizante a 11 e 20%, semelhante à do fungicida iprodione. Assim, a concentração do biofertilizante certamente desempenha um papel importante no controle de alguns patógenos.

Uma outra fonte de variabilidade nas respostas sobre a acumulação de nutrientes em plantas é a diferença de composição química encontrada nos biofertilizantes, devido à utilização ou não de minerais no preparo da mistura (Tabela 1). Esse efeito foi observado por Tanaka (2001) na cultura do tomateiro. Quando foi utilizado biofertilizante sem micronutrientes, observou-se aumento na massa do tecido seco e fresco, sendo mais acentuada a partir da concentração de 12%, mas quando foi aplicado biofertilizante enriquecido com micronutrientes, houve diminuição da massa fresca e seca, a partir da concentração de 4%. São poucos os trabalhos realizados no sentido de se caracterizar os efeitos dos biofertilizantes preparados com diferentes formulações. Isso poderia ajustar a composição química de um produto mais adequado conforme as exigências e

Tabela 01: Composição química de diversos biofertilizantes líquidos encontrados na literatura.

Elemento	Agrobio ^a	Vairo 1 ^b	Vairo 2 ^c	Agrobom ^d	Biof. 1 ^e	Biof. 2 ^f
-----g dm ⁻³ -----						
N-total	0,631	-	12,0	7,61	0,1308	0,120
P	0,170	0,017	0,05	0,06	-	0,340
K ⁺	1,200	0,010	7,13	7,6	-	0,088
Ca ⁺⁺	1,590	-	0,33	0,24	-	0,007
Mg ⁺⁺	0,480	0,003	0,26	0,10	-	0,004
S	0,74	0,005	-	-	-	0,450
-----mg dm ⁻³ -----						
Na ⁺	-	1,7	135,0	215,0	-	-
Cl	-	11,6	-	-	-	-
Zn ⁺⁺	135	0,067	0,33	0,15	-	1,68
Mn ⁺⁺	459	0,166	0,10	0,02	-	4,13
Fe ⁺⁺	82	0,447	4,49	0,64	-	26,42
Cu ⁺⁺	287	0,010	0,06	0,16	-	ALD*
B	-	0,001	18	7,5	-	5,2
Mo	-	0,001	-	-	-	-

pH	6,0	7,8	7,6	7,9	-	-
C.E.(mS cm ⁻¹)	-	-	24,45	24,25	-	-
CO (%)	0,8	-	-	-	16,33	-
MO (%)	3,5	-	-	-	37,23	-

^(a) Fernandes, 2003 e Duarte JR (2002); ^(b) Santos, 1992; ^(c/d) Duenhas (2004); ^(e) Vargas, 1990 citado por Santos & Akiba, 1996; ^(f) Vilella Junior et al. (2003). ALD = abaixo do limite de detecção.

necessidades de cada cultura.

Uma outra alternativa de uso de biofertilizantes nos cultivos de plantas, além da aplicação no solo e pulverização foliar, é o uso no preparo da solução em cultivo hidropônico. Segundo Vilella Júnior et al. (2003), é possível a substituição parcial de adubos minerais por biofertilizantes no cultivo do meloeiro em sistema hidropônico.

Outros produtos, também considerados biofertilizantes, têm sido relatados como importantes para o suprimento de nutrientes e controle de pragas e

doenças. O controle de *B. cinerea*, com extrato aquoso de compostos originários de esterco de cavalo, de gado e de aves, foi relatado por diversos autores em feijão, alface, tomate e pimentão (Elad & Shtienberg, 1994; Mcquilken et al., 1994).

2.4 Biofertilizantes líquidos na cultura do feijoeiro

Existem poucas informações na literatura sobre aplicação foliar de biofertilizante em feijoeiro. Duarte Júnior (2002), observou resultados bastante variáveis em função da concentração e da cultivar avaliada; a produção foi de 2.609 kg ha⁻¹ com aplicação de agrobio a 4% para o cv. Perola e de 2.126 kg ha⁻¹ com a aplicação a 6% para o cv. Ouro Negro, no entanto, não diferindo da testemunha (2.545 kg ha⁻¹ e 2.084 kg ha⁻¹, respectivamente).

A EMBRAPA (CNPAP) tem pesquisado algumas alternativas de adubação do feijoeiro, utilizando biofertilizante via solo. Oliveira et al. (1986), observaram resultados de produção de feijão igual ou superior a adubação química com a utilização de 50 a 100 toneladas por hectare de biofertilizante, obtendo lucros até três vezes superiores ao tratamento sem adubação. Resultados semelhantes foram obtidos por Galbiatti et al. (1996), em que foi avaliado o uso contínuo da aplicação de efluente de biodigestor, via solo, em feijoeiro irrigado por sulco. Aplicando-se 40 toneladas por hectare do biofertilizante no solo, 15 dias antes da semeadura, observaram rendimento de 1.993 kg ha⁻¹, significativamente superior ao tratamento sem biofertilizante (914 kg ha⁻¹), mas não diferindo da adubação mineral (1.924 kg ha⁻¹). Os autores concluíram que a aplicação de biofertilizante substitui a adubação mineral para o cultivo do feijoeiro em sistema irrigado.

2.5 Biofertilizante como agente indutor de resistência sistêmica

Ações dos biofertilizantes de promoção de crescimento vegetal e indução de resistência sistêmica, contra pragas e doenças têm sido relatadas em plantas (Bettiol et al., 1998). Esses efeitos são conseqüências da ação combinada de substâncias orgânicas, nutrientes e microorganismos presentes no biofertilizantes.

Numerosos autores têm comentado sobre a relevância da resistência sistêmica como uma estratégia para o controle de patógenos de importância

agrícola (Sticher et al., 1997; Van-Loon et al., 1998; Mauch-Mani & Métraux, 1998; Hammer-Schmidt, 1999). Reuveni et al. (1995) verificaram que pulverizações foliares com uma solução contendo fosfato de potássio foram suficientes para controlar o oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) da abobrinha. Outros autores têm demonstrado que o bicarbonato de sódio, o bicarbonato de amônio, o bicarbonato de potássio, o sulfato de potássio e outros sais, também podem controlar patógenos de plantas (Horst et al., 1992; Ziv & Zitter, 1992; Ziv & Hagiladi, 1993). No entanto, a proteção da planta devido à aplicação desses sais é explicada não só pela indução de resistência, mas, também, pelos efeitos tóxicos diretos sobre as estruturas do patógeno e pela modificação do pH na superfície da folha (Zavaleta Mejia, 1999).

2.6 Resistência induzida de plantas

Um ponto chave que separa a resistência da suscetibilidade, é o tempo de reconhecimento do patógeno invasor e a eficiência de ativação de mecanismos de defesa do hospedeiro. Uma planta resistente é capaz de desencadear rapidamente uma variedade de respostas de defesa, que limitam a eficiência de colonização do patógeno, enquanto uma planta tolerante não limita a infecção do patógeno, mas reduz sua eficiência (Roy & Kirchner, 2000). Em contraste, uma planta suscetível exibe respostas muito mais lentas, que não conseguem restringir o crescimento da doença e a disseminação ou o poder de agressividade do patógeno (Castro, 1999).

Resistência induzida é um fenômeno pelo qual, plantas são tratadas com agentes patogênicos virulentos ou não, ou com agentes químicos, podendo resultar na indução de resistência local ou sistêmica, após subsequente ataque por patógenos (Van-Loon et al., 1998; Hammer-Schmidt & Becker, 1997; Sticher et al., 1997). A resistência induzida não é a criação de resistência, mas a ativação de mecanismos de resistência latentes (Van-Loon et al., 1998). A resistência induzida a patógenos pode ser subdividida em duas principais categorias (Hammer-Schmidt, 1999): resistência sistêmica adquirida e resistência sistêmica induzida.

A resistência sistêmica adquirida ou “SAR – Systemic Acquired Resistance” (Van-Loon et al., 1998; Sticher et al., 1997) é um tipo de resistência

que age de duas maneiras, localmente ou sistemicamente, em resposta a um patógeno, levando a reação de hipersensibilidade (Hammer-Schmidt, 1999). Nesse tipo de resistência tem-se observado o acúmulo de ácido salicílico e proteínas PRs (Proteínas relacionadas com a patogênese), e sua indução é silicato-dependente (Hammer-Schmidt, 1999). Entretanto, há muito para ser investigado, principalmente sobre a natureza e o alvo das respostas induzidas pelos patógenos ou por outros estresses, como a via relacionada a silicato-independente (Mauch-Mani & Métraux, 1998).

A resistência sistêmica adquirida também pode ser induzida por aplicações exógenas de ácido salicílico ou outras substâncias, como BTH (ácido benzotriazol) e INA (ácido 2,6-dicloroisonicotínico) (Kessmann et al., 1994; Iriti & Faoro, 2003).

O segundo tipo de resistência, a resistência sistêmica induzida ou “ISR – Induced Systemic Resistance”, desenvolve-se sistemicamente em resposta à colonização de raízes de plantas por certas bactérias de rizosfera, conhecidas por Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas. Estas Rizobactérias não causam reação de hipersensibilidade na planta hospedeira (Van-Loon et al., 1998); e, possivelmente, não estão relacionadas com o acúmulo de proteína PR. Acredita-se que a sua indução não seja pela via silicato-dependente, e possivelmente mediada por uma via sensível a jasminato e etileno (Van-Loon et al., 1998; Hammer-Schmidt & Becker, 1997).

A reação de hipersensibilidade (HR) ocorre devido a uma resistência local, com a morte de células situadas nos locais por onde o agressor entra no vegetal (Bestwick et al., 2001; Graham & Graham, 1999). Com isso, a planta impede o acesso do patógeno às células vizinhas e o subsequente progresso da doença.

A HR ocorre pelo reconhecimento de sinais moleculares específicos (eliciadores) produzidos pela planta. O reconhecimento desses eliciadores, ativa uma cascata de genes do hospedeiro que leva à HR e à inibição do crescimento do patógeno. Portanto, a HR somente ocorre em resposta a uma relação incompatível entre a planta e o patógeno (Castro, 1999). Os aspectos fisiológicos da HR incluem, o aumento rápido e transitório de agentes oxidantes, tais como o superóxido e o peróxido de hidrogênio (Lamb & Dixon, 1997); a perda de íons potássio (K^+) e o ganho de íons hidrogênio (H^+) pelas células; a destruição de

compartimentos celulares e o espessamento das paredes celulares e da cutícula (Kovats et al., 1991; Stein et al., 1993), além da síntese de fitoalexinas e proteínas PR (Sticher et al., 1997).

Existem diversos grupos de proteínas PRs pesquisadas. As mais conhecidas incluem-se a PR-1 e PR-2 (1,3-glucanases), PR-3 (Quitinases), PR-5 (Osmotina). Todas possuem atividade antimicrobiana *in vitro* (Abad et al., 1996; Mauch et al., 1984; Niderman et al., 1995) ou também ação como elicitoras, induzindo resistência (Keen & Yoshikawa, 1983).

Iriti & Faoro (2003), estudaram o uso de Benzothiadiazole (BTH) como indutor de resistência em cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) contra *Uromyces appendiculatus* (ferrugem do feijoeiro), e observaram que pulverização com BTH a 0,3 mM, sete dias antes da inoculação do patógeno, foi suficiente para o controle total da doença em todos os cultivares testados. Também foi observado acúmulo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nos tecidos tratados, indicando que o H₂O₂ promoveu maior atividade da peroxidase aniônica, induzindo resistência adquirida em feijoeiro contra *U. appendiculatus*.

2.7 Efeito dos nutrientes sobre a ocorrência de doenças de plantas

Vários estudos mostram os efeitos da nutrição mineral sobre o crescimento e a produtividade, com ênfase nos nutrientes e sua relação com o metabolismo das plantas. No entanto, a nutrição mineral pode também agir alterando a resistência das plantas contra pragas e doenças (Marschner, 1995).

Todos os elementos minerais essenciais são considerados importantes em relação à incidência ou severidade das doenças de plantas. Segundo Huber (1980), o efeito dos nutrientes sobre as doenças pode ser avaliado das seguintes formas: (1) pelo efeito da fertilização mineral na severidade da doença; (2) pela comparação das concentrações de elementos nos tecidos de cultivares resistentes e suscetíveis; (3) pela correlação entre variáveis que influenciam a disponibilidade de nutrientes em plantas com a doença; ou (4) pela combinação de todos esses três efeitos.

A resistência das plantas às pragas e às doenças pode ser diminuída ou aumentada pelo efeito da nutrição mineral sobre as estruturas anatômicas como, por exemplo: células epidérmicas e cutículas mais finas e parede celular com

menor grau de silificação, suberização e lignificação. Além disso, a nutrição pode afetar as propriedades bioquímicas, como redução de compostos fenólicos que atuam como inibidores do desenvolvimento de pragas e doenças, ou acúmulo de compostos orgânicos de baixo peso molecular (glicose, sacarose e aminoácidos), resultado da maior atividade de enzimas catabólicas como amilase, celulase, protease e sacarase, muito comum em plantas deficientes em potássio (Ellet, 1973; Huber & Arny, 1985; e Perrenoud, 1990; Marschner, 1995).

Os macronutrientes N, K e Ca em deficiência ou excesso nutricionais são os que provocam as maiores mudanças estruturais e bioquímicas, tornando as plantas mais suscetíveis ao ataque de patógenos (Silveira et al., 2003). O fósforo, magnésio e enxofre são os macronutrientes que menos se relacionam com a ocorrência de doenças. Enquanto que os micronutrientes que mais interferem no processo de defesa das plantas contra os patógenos, normalmente são o zinco, o boro, o cobre e o manganês, pois esses elementos participam diretamente da síntese de lignina (Graham & Webb, 1991).

A germinação de esporos de fungos na superfície de folhas, raízes e caule pode ser estimulada pela presença de exsudados da planta. O fluxo de exsudados contribui para o sucesso da infecção na maioria das doenças. Portanto, a deficiência de zinco, por exemplo, pode favorecer a incidência de fungos. Dell & Webb (1982), citados por Graham & Webb (1991), verificaram que plantas de *Eucalyptus marginata* e *Eucalyptus sieberi* carentes em zinco atraíam mais zoósporos de *Phytophthora* para suas raízes do que plantas com adequado suprimento de zinco. De acordo com os autores, isso possivelmente ocorreu devido ao aumento da população de zoósporos nas raízes de plantas deficientes em zinco, com acúmulo de carboidratos e de aminoácidos.

A carência de boro pode provocar menor transporte de açúcares solúveis das folhas para o caule, acarretar paredes celulares mais finas e desestruturadas. Portanto, plantas deficientes em boro apresentam tecidos com menor barreira mecânica, favorecendo a penetração das hifas. Também ocorre alta concentração de açúcares nas folhas, servindo como fonte de nutrientes para os patógenos na fase de colonização dos tecidos (Silveira et al., 2003).

O molibdênio também pode indiretamente contribuir para a prevenção de doenças, pois participa da ativação das enzimas Redutase do nitrato e Nitrogenase, as duas enzimas chaves do metabolismo do nitrogênio em plantas

superiores (Taiz & Geizer, 2004). Segundo Jesus Junior (2001), o crescimento e a produção de plantas de feijoeiro pulverizadas com molibdênio por via foliar e inoculadas com *Uromyces appendiculatus* e *Phaeoisariopsis griseola*, houve decréscimo na intensidade das doenças, bem como promoveu incrementos na área foliar, na taxa fotossintética líquida, e na produção do feijoeiro. Ferreira (1997) avaliou o efeito da aplicação foliar da calda Viçosa, com ou sem adição de molibdênio, de magnésio, de zinco e/ou de boro em experimento com feijoeiro em casa-de-vegetação e campo, e não observou diferenças significativas na incidência da mancha angular pela retirada ou adição de elementos à calda Viçosa. No entanto, verificou aumento significativo de 35% na produção (em relação à testemunha) com a aplicação da calda Viçosa com e sem molibdênio. Ainda, a retirada de boro da calda Viçosa, propiciou considerável aumento na produtividade do feijoeiro.

Por outro lado, a atividade dessas enzimas pode prevenir o acúmulo de nitrato nos tecidos. A forma de nitrogênio disponível também pode favorecer certas doenças (Huber, 1980, Duffy & Défago, 1999). O excesso de nitrato pode favorecer a germinação e o desenvolvimento de certos conídios (Marschner, 1995) ou em certas condições, as plantas podem não ter quantidades suficientes de carboidratos disponíveis para converter o excesso de amônio, que se torna tóxico, diminuindo a resistência das plantas à infecção.

O silício não é considerado essencial para todas as plantas (Marschner, 1995), mas apesar disso diversos efeitos benéficos desse elemento têm sido constatados no controle de doenças de plantas (Volk et al., 1958; Gangopadhyay & Chattopadhyay, 1975; Datnoff et al., 1991; Menzies et al., 1991; Chérif e Bélanger, 1992; Samuels et al., 1994; Bélanger et al., 1995; Korndörfer & Datnoff, 1995; Vitti et al., 1997; Lima Filho et al., 1998 e 1999; Epstein, 1999; Savant et al., 1999). As principais mudanças provocadas são na anatomia dos tecidos das plantas, por exemplo células epidérmicas mais grossas, deposição de sílica nas células da camada epidérmica, maior resistência física à penetração de patógenos. Além da função estrutural, o silício exerce a função de ativação mais rápida e extensiva dos mecanismos de defesa. Os locais de penetração dos fungos apresentam maior acúmulo de silício (Samuels et al., 1994). Nesses pontos de infecção ocorre um aumento da síntese de compostos fenólicos, que atuam como substâncias inibidoras, impedindo o desenvolvimento do patógeno.

2.8 A Mancha angular do feijoeiro

As doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) constituem as principais causas da baixa produtividade da cultura no Brasil. A mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris) tem causado sérios prejuízos a cultura, principalmente, quando ocorre fatores ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença em determinadas épocas do ano (Paula Júnior & Zambolim, 1998; Faleiro et al., 2001). Segundo Coelho (1999) a mancha angular ocorre nas três épocas de plantio do feijoeiro: nos plantios das águas (outubro, novembro e dezembro), de inverno (junho e julho) e da seca (fevereiro, março e abril), mas a intensidade dessa doença pode variar em função do local e das condições climáticas predominantes em cada época. Maior intensidade da doença tem sido observado no final do ciclo da cultura, após o florescimento ou, todavia, sistemas de produção feijoeiro irrigado sob pivô central e cultivos sucessivos têm contribuído para antecipar a ocorrência da doença no campo, ocasionando maiores danos.

A mancha angular é de ocorrência generalizada nas regiões produtoras de feijão do Brasil, podendo causar perdas de até 70% em cultivares suscetíveis (Sartorato & Rava, 1994). Segundo Souza Filho et al. (2001), em experimento de campo realizado em Campos dos Goytacazes, a redução do rendimento do feijoeiro devido às doenças foi superior a 60% (inverno de 1999), sendo que uma parcela considerável das perdas foi devido à ferrugem. Souza Filho (2004)(comunicação pessoal), revelou que a ferrugem e a mancha angular são as principais doenças do feijoeiro em Campos dos Goytacazes, e que as vezes é necessário intervir com controle químico para assegurar a produção. O crestamento bacteriano comum, também se manifestou, mas em menor intensidade que a ferrugem e mancha angular.

Os fatores climáticos que exercem maior influência sobre o desenvolvimento de doenças fúngicas foliares do feijoeiro são a temperatura, a umidade relativa e o molhamento foliar (por chuva, irrigação ou orvalho). Destas, a temperatura parece estar mais relacionada com a incidência e a severidade das doenças. Os dados climáticos obtidos por Coelho (1999) e sua relação com doenças do feijoeiro mostraram que, no plantio das águas, a mancha angular ocorreu com maior intensidade, atingindo maior severidade e maiores taxas de

crescimento, aos 67 dias, enquanto no plantio da seca foi aos 58 dias, devido à predominância de temperaturas superiores a 21,1^oC, quando houve molhamento foliar e não se registrou temperaturas menores ou iguais a 16^oC. Além desses fatores, a luminosidade e o CO₂ também podem influenciar o desenvolvimento de doenças de plantas, pois são essenciais para a fotossíntese (Marschner, 1995).

Stangarlin (1999) avaliou plantas de feijão infectadas com *U. appendiculatus* e *P. griseola* e observou que infecções com esses patógenos provocaram alterações no metabolismo fotossintético das plantas de feijoeiro (atividades de clorofilase e de RUBISCO) e que as respostas variaram em função do cultivar em estudo, bem como da posição da folha amostrada na planta. No cultivar Carioca, os efeitos negativos verificados na área verde remanescente, aparentemente sadia, da segunda folha trifoliolada infectada com *P. griseola*, foram compensados pela manutenção dos níveis de clorofila e pelos incrementos na atividade da RUBISCO que ocorreram na terceira folha trifoliolada não inoculada. Para o cultivar Rosinha, no entanto, os efeitos deletérios de *P. griseola* puderam ser observados tanto em folhas infectadas quanto em folhas distantes do local de infecção. A infecção por *U. appendiculatus* no cultivar Rosinha favoreceu a atividade da RUBISCO e o incremento no teor de clorofila tanto em folhas infectadas quanto em folhas sadias das plantas doentes, enquanto que para o cultivar Carioca, os efeitos não foram característicos; e os níveis de clorofilas estiveram relacionados à atividade de clorofilase em ambos os patossistemas.

É fundamental que o controle dessas doenças seja feito de forma integrada, levando em consideração as características do patógeno, da planta hospedeira, do ambiente e do manejo da cultura. A utilização de cultivares resistentes tem sido considerado um método eficaz, seguro e de baixo custo contra diversas doenças; no entanto, a grande variabilidade dos patógenos *P. griseola* (Pastor-Corrales e Jara, 1995; Nietzsche et al., 1997) tem dificultado o uso de cultivares resistentes. Uma outra medida que pode contribuir para o controle integrado dessas doenças em feijoeiro é o uso de produtos alternativos da agricultura, como os biofertilizantes. Alves et al. (2001) sugerem que a utilização de biofertilizantes deve, obrigatoriamente, fazer parte de um projeto de manejo ecológico, levando-se em conta o conhecimento das interações desse produto bem como seu impacto sobre as relações trofobióticas dos organismos envolvidos

(planta, patógenos e outros organismos). Entretanto, não há registro na literatura sobre o uso desses produtos no controle do patógeno *Phaeoisariopsis griseola* ou da doença (mancha angular) causada no campo.

CAPÍTULO I

EFEITO DA PULVERIZAÇÃO FOLIAR DE BIOFERTILIZANTES E SOLUÇÕES FERTILIZANTES SOBRE OS TEORES DE NUTRIENTES FOLIARES E O RENDIMENTO DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

1. INTRODUÇÃO

Melhorar o rendimento de culturas agrícolas utilizando tecnologias de baixo custo e com mínima agressão ao ambiente é um desafio nada fácil para os pesquisadores. O feijão comum, por exemplo, é uma cultura que apresenta grande importância para o Brasil, pois é um alimento bastante consumido pelos brasileiros ($16 \text{ kg hab}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), no entanto, o total produzido não é suficiente para atender a demanda interna (IBGE, 2004; CONAB, 2003), onde a baixa produtividade média obtida (745 kg ha^{-1} , em 2004) (IBGE, 2004) é a principal razão para a importação de feijão de outros países, fato que merece maior atenção dos pesquisadores principalmente pelo potencial de produtividade que a cultura pode atingir (mais de 3000 kg ha^{-1}) e pelas dificuldades ao acesso a insumos modernos pelos produtores de feijão de pequena propriedade (propriedade familiar), que são responsáveis por mais de 67% da produção nacional.

Atualmente é grande a preocupação dos pesquisadores na geração de alternativas ecológicas para diminuir os problemas do uso indiscriminado de

agroquímicos na agricultura, que tem contaminado o ambiente, os alimentos e o homem. Viabilizar técnicas mais eficientes no uso de fertilizantes minerais pelas plantas, o reaproveitamento de resíduos orgânicos gerados na indústria, agroindústria e na agricultura, e transforma-los em insumos de baixo custo, de baixo impacto no ambiente (Medeiros et al., 2003) e que atendam as necessidades dos pequenos agricultores, são alternativas que podem contribuir para a sustentabilidade agrícola e ambiental e melhorar qualidade de vida das pessoas (Altieri, 2002). Lele (1998) considera que a sustentabilidade da agricultura familiar é, talvez, um dos desafios mais importantes atualmente enfrentados pela sociedade brasileira e pelos seus cientistas. Um exemplo de sucesso e que é possível a sustentabilidade é a produção de arroz irrigado em pequenas propriedades na China, onde apresenta altos níveis de uso de mão-de-obra e baixa aplicação de insumos externos, contudo, os registros demonstram altos níveis de produção desde o século XVII (Francis, 1994).

Os biofertilizantes líquidos têm sido uma das alternativas atualmente pesquisadas, principalmente com objetivo de contribuir para as plantas cultivadas de acordo com as normas da agricultura orgânica (Bettiol, 1998; Fernandes, 2000; Medeiro, 2003) e da teoria da trofobiose (Chaboussou, 1999). Biofertilizantes líquidos são atualmente produzidos em tambores de 200 litros e o produto é obtido após a fermentação anaeróbica de esterco de gado e água por aproximadamente 60 dias. Esse biofertilizante é composto por substâncias orgânicas, como ácidos orgânicos, álcoois, quelatos organo-minerais, nutrientes essenciais ao metabolismo vegetal (Santos & Akiba, 1996; Bettiol, 1998) e células vivas ou latentes de microrganismos do metabolismo aeróbico e anaeróbico (Oliveira et al., 1986).

Ultimamente, os biofertilizantes passaram a ser produzidos em tambores de 200 litros e enriquecidos com minerais e aditivos. Não existe uma fórmula única para produção de biofertilizantes. Receitas variadas vêm sendo testadas por pesquisadores. As fórmulas mais conhecidas são: o biofertilizante “Supermagro” (Magro, 1994), o biofertilizante “Vairo” (Santos, 1992) e o biofertilizante “Agrobio” (Fernandes, 2000). Uma das principais recomendações do uso dos biofertilizantes têm sido para controlar pragas e doenças (Santos & Akiba, 1996; Bettiol, 1998; Fernandes, 2000; Medeiro, 2003; Deleito et al., 2005), principalmente nas culturas da maçã, pêssigo, uva, citros, café, tomate, batata e

hortaliças em geral. Porém, a caracterização físico-química dos nutrientes dos biofertilizantes, pouco tem sido a atenção dos pesquisadores, apesar de, na maioria dos casos, os biofertilizantes serem enriquecidos com minerais.

Os nutrientes adicionados aos biofertilizantes na forma de minerais podem passar por transformações físico-químicas e interagir-se com a matéria orgânica. Portanto, não necessariamente a presença dos nutrientes no biofertilizante indica que estão na forma iônica e disponível para que as plantas possam absorvê-los. A concentração total dos nutrientes indicada pela análise química, não fornece muita informação a respeito da sua concentração livre (forma iônica dissociada) que realmente pode ser utilizada pela planta. Assim, a mistura de duas ou mais substâncias químicas podem dar origem a complexos estáveis, podendo reduzir a concentração de alguns nutrientes na forma livre ou ainda aumentar a de outros. Nesse sentido, a especiação permite avaliar a biodisponibilidade dos elementos através da diferenciação das formas nas quais o metal se apresenta, além de possibilitar o estudo de adsorção e complexação do elemento em sistemas aquosos, que atualmente tem sido estudado por meio de isotermas de adsorção (Florerence et al., 1992).

O termo especiação refere-se às diferentes formas físico-químicas do elemento (íons livres, complexos solúveis, quelatos, pares iônicos, precipitados e fases gasosas e diferentes estados de oxidação), as quais juntas representam a concentração total na amostra, enquanto a biodisponibilidade refere-se somente à fração do elemento prontamente disponível para ser absorvido pela planta. Parker et al. (1995) sugeriram o modelo computacional de especiação química GEOCHEN PC para soluções nutrientes. Este programa realiza um balanço molar de cada espécie química, gerando um sistema de equações não lineares acoplado a uma constante de estabilidade condicional ($^{\circ}\text{K}$) para os complexos e sólidos formados.

Entretanto, uma medida confiável de conhecer a biodisponibilidade é analisar a planta um período de tempo depois de tratada e observar quanto de cada nutriente foi realmente absorvido ou acumulado na planta.

Devido à complexidade de interações possíveis entre nutrientes e com a matéria orgânica, a proposta desse trabalho foi avaliar conjuntamente a análise química dos teores totais e solúveis dos nutrientes presentes nos biofertilizantes, a especiação química desses nutrientes e experimento com plantas de feijão em

casa-de-vegetação, servindo como parâmetros para auxiliar na avaliação e interpretação da biodisponibilidade de nutrientes dos biofertilizantes e, para a comprovação das hipóteses, testar ainda plantas de feijoeiro em experimento de campo por meio de pulverização foliar de biofertilizantes líquidos.

Com base no exposto, esse trabalho tem o objetivo investigar a influência da adição de minerais na biodisponibilidade de nutrientes em duas formulações de biofertilizantes e os efeitos da sua pulverização foliar sobre os teores de nutrientes foliares e os componentes de produtividade do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivados em condições de casa-de-vegetação e de campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local dos experimentos

Os experimentos de casa-de-vegetação e de campo foram conduzidos no município de Campos dos Goytacazes, RJ, cujas coordenadas geográficas são 41° 19' 40" de longitude oeste de Greenwich e 21° 19' 23" de latitude sul, com altitude de 11 metros. O clima da região é classificado, segundo Köppen, como Aw, do tipo quente e úmido, com temperatura do mês mais frio superior a 18° C e a temperatura média anual de 24° C, sendo a amplitude térmica anual muito pequena, com temperatura média do mês mais frio em torno de 21° C e a mais quente, em torno de 27° C. A precipitação anual média está em torno de 1.023 mm, concentrando-se principalmente nos meses de outubro a janeiro.

Dois experimentos foram conduzidos, em casa-de-vegetação, localizada na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e um terceiro experimento, conduzido em campo, localizado na Estação Experimental da UENF na PESAGRO-Campos, no período de abril a dezembro de 2004. A terra utilizada no experimento de casa-de-vegetação foi retirada da camada superficial (Horizonte A, 15 cm), depois de removidos os cinco centímetros superficiais de um solo classificado como Argilssolo Amarelo de textura arenosa, de uma área localizada em Travessão, em Campos-RJ e o solo utilizado no experimento de campo, classificado como Neossolo Flúvico Tb baixa saturação de bases, localizado na Estação Experimental de Pesquisa da UENF na

PESAGRO, em Campos dos Goytacazes, RJ. As características química e física desses dois solos encontram-se na Tabela 2.

2.2 Produção de duas formulações de biofertilizantes

Duas formulações de biofertilizantes, uma sem adição de minerais (BIO SM, biofertilizante comum) e outra com a adição de minerais (BIO CM, biofertilizante enriquecido), foram produzidas pelo processo de fermentação anaeróbica, em tambores de plástico de 100 litros, na UENF, em Campos dos Goytacazes-RJ, no período de setembro a novembro de 2003. As formulações de biofertilizantes foram produzidas sob as mesmas condições, variando apenas na adição dos minerais, de acordo com a descrição a seguir. Foram adicionados em cada tambor 12 litros de esterco fresco de vaca em regime de pastoreio; 36 litros de água não clorada; meio litro de leite fresco de vaca e meio litro de melaço de cana; homogeneizados por cinco minutos e deixados em repouso por três dias. Decorrido esse tempo foi adicionado, no tambor do biofertilizante enriquecido (BIO CM), um dos seguintes minerais de cada vez (dissolvidos em 1,5 litro de água), individualmente, de cinco em cinco dias: a) sulfato de zinco (800 g); b) cloreto de cálcio (800 g) + farinha de osso (80 g); sulfato de magnésio (800 g); c) sulfato de manganês (120 g); d) sulfato de cobre (150 g); e) sulfato de cobalto (20 g) + água (8 L) + esterco (8 L); f) sulfato ferroso (22 g); g) ácido bórico (400 g) e h) molibdato de sódio (40 g). Para ativar a fermentação foi adicionado à mistura, a cada cinco dias, junto aos sais, meio litro de leite fresco de vaca e meio litro de melaço de cana, nos tambores do BIO CM e do BIO SM. Finalizadas as adições, a mistura foi completada para 85 litros com água, permanecendo em repouso por 20 dias. Finalmente, adicionadas 600 g de cal hidratada, o volume foi completado com água para 100 litros e coados (malha de 2,0 mm) e armazenadas sob as mesmas condições anteriores até o momento do uso nos experimentos. Esse procedimento de produção das duas formulações de biofertilizantes foi adaptado das indicações propostas por Santos (1992), Magro (1994) e Fernandes (2000), para atender o objetivo dessa pesquisa.

Tabela 2 - Composição química e granulométrica da terra do Horizonte A de um Argilssolo Amarelo utilizada nos dois experimentos de casa-de-vegetação (Nutrição mineral e Resistência induzida) e do solo utilizado no experimento de campo (Neossolo Flúvico). UENF, 2004.

Características¹	Argilssolo Amarelo (Horizonte A)	Neossolo Flúvico (0-20 cm)
pH em água 1:2,5	5,7	5,3
P disponível (mg dm ⁻³)	4,0	13,1
K ⁺ disponível (mg dm ⁻³)	29,0	65,0
Ca ⁺² trocável (mmol _c dm ⁻³)	12,0	20,1
Mg ⁺² trocável (mmol _c dm ⁻³)	5,0	9,2
Al ⁺³ trocável (mmol _c dm ⁻³)	3,0	1,9
H + Al ⁺³ (mmol _c dm ⁻³)	26,0	38,3
Na ⁺ trocável (mmol _c dm ⁻³)	0,2	1,31
S (mg dm ⁻³)	7,4	40,8
B (mg dm ⁻³)	0,34	0,46
Cu ⁺⁺ (mg dm ⁻³)	1,2	0,4
Fe ⁺⁺ (mg dm ⁻³)	34	73
Mn ⁺⁺ (mg dm ⁻³)	3,2	37,8
Zn ⁺⁺ (mg dm ⁻³)	0,6	2,5
M.O. (g dm ⁻³)	12,4	17,4
C (%)	0,72	1,01
N (%)	0,08	-
Argila (g kg ⁻¹)	190	294
Silte (g kg ⁻¹)	80	47
Areia (g kg ⁻¹)	730	659
SB (mmol _c dm ⁻³)	17,9	32,3
CTC a pH 7,0 (mmol _c dm ⁻³)	43,9	70,6
CTC efetiva (mmol _c dm ⁻³)	20,7	32,9
V (%)	40,8	45,7
m (%)	14,3	5,6

⁽¹⁾ Foi usado o Mehlich 1 na extração de P, K, Na, Cu, Zn, Fe e Mn (Braga e Defelipo, 1974); O KCl 1M para extração de Ca, Mg e Al (Vettori, 1969); A MO = matéria orgânica, estimada por MO (%) = 1,724 x %C; C% = oxidação com K₂Cr₂O₇ Método colorimétrico (Anderson & Ingram, 1993); SB = soma de bases trocáveis (Ca + Mg + K + Na); CTC a pH 7,0 = capacidade de troca de cátions a pH 7,0 (CTC 7,0 = SB + H + Al); CTC efetiva = capacidade de troca de cátions no pH real do solo (CTC efetiva = Al+Ca+Mg+K); V % = saturação de bases = (100*SB) / CTC efetiva; m % = saturação de alumínio = (100*Al) / (SB + Al).

2.3 Experimentos em casa-de-vegetação

2.3.1 Tratamentos e delineamento experimental

Nos experimentos conduzidos em casa-de-vegetação da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, foram avaliados três biofertilizantes e três soluções nutritivas e um tratamento adicional (6+1), sendo que no primeiro foi testada a concentração de 5%, com a finalidade de uso como fertilizante foliar e no segundo a concentração de 20%, com a finalidade de uso como fertiprotetor, conforme descrito abaixo:

Controle - Aplicação de água desionizada;

T₁ - Biofertilizante comum (BIO SM);

T₂ – Biofertilizante enriquecido (BIO CM);

T₃ - Biofertilizante enriquecido autoclavado;

T₄ - Solução formulada a partir dos minerais adicionados no T₂;

T₅ - Solução formulada a partir dos teores totais dos nutrientes do T₂;

T₆ - Solução formulada a partir dos teores solúveis dos nutrientes do T₂.

Os tratamentos T₁ e T₂ foram obtidos conforme descrito no processo de produção dos biofertilizantes. O T₃ foi obtido por meio da esterilização do T₂ em autoclave à 120°C por 20 minutos. O T₄ obtido pela mistura de minerais na mesma concentração dos adicionados no T₂. O T₅ e T₆, foram formulados a partir da composição química determinada analiticamente de acordo com os totais (determinação dos teores por digestão total da amostra) e dos teores solúveis (determinação dos teores diretamente no extrato – não feita digestão da amostra), respectivamente. A composição dos nutrientes, o pH e a condutividade elétrica de cada tratamento podem ser observados nas Tabelas 3 a 6. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por um vaso com capacidade para 7 kg de terra e três plantas de feijoeiro (cultivar BRS Valente).

2.3.2 Condições de cultivo e aplicação dos tratamentos

As plantas de feijão foram cultivadas em vaso, onde a temperatura média mínima e média máxima dentro da casa-de-vegetação foram de 20 e 28°C, respectivamente. A adubação de base foi realizada na forma de solução diluída

Tabela 3. pH, condutividade elétrica, e teores totais e solúveis de macronutrientes de duas formulações de biofertilizantes. UENF, março de 2004.

Formulação	Fração	pH	C.E. ¹	C% ²	-----g dm ⁻³ -----					
					N _{total}	P	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	S-SO ₄ ⁻²
BIO SM	Total ³	5,7	7,68	0,96	0,80	0,21	0,96	2,76	0,50	0,22
	Solúvel ⁴	5,7	7,88	0,05	0,27	0,08	0,88	2,40	0,37	0,01
BIO CM	Total ³	5,3	11,50	1,13	0,78	0,24	0,96	3,48	1,20	1,99
	Solúvel ⁴	5,3	11,60	0,07	0,21	0,03	0,94	2,40	1,20	0,77

⁽¹⁾ C.E. = Condutividade elétrica, medida em mmhos cm⁻¹ (1 mmhos cm⁻¹ = 1mS cm⁻¹).

⁽²⁾ C% porcentagem de carbono orgânico determinado por meio da oxidação com K₂Cr₂O₇ (Anderson & Ingram, 1993).

⁽³⁾ Características medidas em amostra pura de biofertilizante líquido. Os nutrientes foram determinados após a evaporação da água em blocos de aquecimento e submetida à digestão ácida. (Teores totais do biofertilizante).

⁽⁴⁾ Características medidas em amostra de biofertilizante líquido depois de submetida à centrifugação de 20.000 rpm por três horas e a filtração milipore a 0,7 µm de diâmetro e os nutrientes determinados diretamente no extrato, exceto para N e P (Teores solúveis do biofertilizante).

Tabela 4 - Teores totais e solúveis de micronutrientes de duas formulações de biofertilizantes. UENF, março de 2004.

Formulação	Fração	-----mg dm ⁻³ -----							
		Cl ⁻	Zn ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Fe ⁺⁺	B	Na ⁺	Mo ³
BIO SM	Total ¹	692,0	16,0	14,0	8,0	180,0	8,5	121,5	0,0061
	Solúvel ²	685,2	1,05	7,7	0,04	7,8	0,5	117,3	0,0046
BIO CM	Total ¹	4.777,0	2.522,8	351,0	105,0	192,0	73,0	209,1	3,16
	Solúvel ²	4.615,0	2.291,0	295,8	4,0	60,9	7,1	187,7	2,07

⁽¹⁾ Características avaliadas em amostra pura de biofertilizante líquido. Os nutrientes foram determinados após a evaporação da água em blocos de aquecimento e submetida à digestão ácida (Teores totais do biofertilizante).

⁽²⁾ Características medidas em amostra de biofertilizante líquido depois de submetida à centrifugação de 20.000 rpm por três horas e a filtração milipore a 0,7 µm de diâmetro e os nutrientes determinados diretamente no extrato, exceto para B e Mo (procedeu-se à evaporação da água em blocos de aquecimento e submetida à digestão) (Teores solúveis do biofertilizante).

⁽³⁾ Determinado por colorimetria utilizando o método do iodeto de potássio (Pessoa, 1998; Fontes et al., 2000; Polidoro, 2001), com modificações.

em água desionizada e aplicada sobre os vasos antes do plantio. Para aplicação dos fertilizantes tanto no plantio quanto em cobertura foi tomada decisão como referência a análise do solo (Tabela 2) e as quantidades aplicadas (no plantio e cobertura) foram as seguintes: 17,50 mg kg⁻¹ de solo de N (como uréia); 78,75 mg kg⁻¹ de solo de P₂O₅ (como fosfato mono-amônio); e 35,00 mg kg⁻¹ de solo de K₂O (como cloreto de potássio). A adubação de cobertura de 35,00 mg kg⁻¹ de solo de N (como uréia) foi realizada aos 33 dias após a emergência das plantas (d.a.e) em estádio V4/R5. Todos esses fertilizantes foram dissolvidos em água, e aplicados nos vasos na forma de solução com auxílio de uma pipeta graduada.

Tabela 5 - Concentração total (g dm^{-3}) dos sais utilizados no preparo da solução estoque dos tratamentos T4 (formulada a partir dos minerais adicionados ao T2), T5 (formulada a partir dos teores totais dos nutrientes do T2) e do T6 (formulada a partir dos teores solúveis dos nutrientes do T2). Estas soluções foram utilizadas no preparo da calda da pulverização foliar (5% e 20%) do feijoeiro comum (cv. BRS Valente) no experimento de casa-de-vegetação. UENF, abril de 2004.

Mineral utilizado	Tratamentos		
	T4	T5	T6
NH_4NO_3	-	0,684	0,599
NaNO_3	-	0,773	-
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	1,947	-
KH_2PO_4	-	1,055	0,153
KCl	-	1,253	1,708
CaCl_2	8,000 ¹	-	-
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	1,411	-
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	-	5,722	4,437
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,000 ¹	-	-
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-	10,038	10,038
NaCl	-	-	0,477
$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	8,000 ¹	6,925	3,216
ZnO	-	-	1,393
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,200 ¹	1,080	0,910
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,500 ¹	0,413	0,016
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,200 ¹	0,200 ²	0,200 ²
H_3BO_3	4,000 ¹	0,418	0,040
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,220	-	-
FeEDTA	-	1,197	0,380
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	0,006	0,004
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,400	-	-
Cal hidratada	6,000 ¹	-	-

⁽¹⁾ Quantidade do fertilizante comercial adicionado para o preparo do tratamento. Os outros sais foram utilizados reagentes analíticos P.A. ⁽²⁾ Não foi realizada a análise química do cobalto, portanto, em T5 e T6, foi adicionado na mesma quantidade do T4.

Tabela 6 - Condutividade elétrica e pH de soluções e biofertilizantes diluídos utilizados na pulverização foliar do feijoeiro comum (cv. BRS Valente) no experimento de casa-de-vegetação. UENF, abril de 2004.

Tratamento	pH		CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	
	5%	20%	5%	20%
Controle ¹	5,4(6,23)		5,5(1,4)	
T1	6,6	6,5	768	2.950
T2	5,4	5,3	1.500	4.900
T3	5,6	5,4	1.720	5.150
T4 ¹	5,4(8,6)	5,4(8,0)	1.740	5.950
T5 ¹	5,4(8,9)	5,4(8,9)	2.120	7.660
T6 ¹	5,4(9,6)	5,4(9,5)	1.960	6.400

⁽¹⁾ O pH das soluções dos minerais adicionados ao biofertilizante (T4), dos teores totais (T5) e dos teores solúveis (T6) e do tratamento controle foi ajustado para 5,4, utilizando-se soluções de HCl 0,1/2,0 M. O valor entre parêntese refere-se ao pH ou CE antes da correção do pH para 5,4.

A semeadura foi realizada em cinco de abril e a emergência em 10 de abril de 2004. Cinco sementes de feijão cultivar BRS Valente (hábito de crescimento ereto - Tipo I) foram semeadas em cada vaso e após uma semana da emergência realizou-se o desbaste deixando-se apenas as três plantas mais vigorosas em cada vaso.

As pulverizações foliares com as formulações e soluções dos tratamentos foram realizadas nos seguintes estádios fenológicos: a primeira pulverização foi realizada quando as plantas apresentaram o segundo trifólio completamente expandido (26 d.a.e – V3/V4) e a segunda realizada, sete dias após a primeira pulverização (33 d.a.e – V4/R5).

As duas pulverizações foliares das formulações e soluções foram realizadas às 18:00 horas, com temperatura em torno de 24°C e umidade relativa de 85%. O volume médio de solução pulverizada foi de 15,0 cm³ por vaso (5,0 cm³ por planta) com auxílio de um borrifador manual. A colheita final foi realizada em 05/07/2004.

2.3.3 Variáveis analisadas

2.3.3.1 Teores de nutrientes nas folhas de feijão

As variáveis analisadas foram as seguintes: teores foliares de N-orgânico (N-NH₄⁺), P, K⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, S-SO₄⁻², Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Cu⁺⁺, Fe⁺⁺, B e Na⁺; e o rendimento de grãos por vaso (g vaso⁻¹).

Para determinação dos teores de nutrientes foliares foi coletado o primeiro trifolíolo completamente expandido do ápice para a base das três plantas aos 40 dias após a emergência (40 d.a.e, R5/R6). As amostras de folhas foram acondicionadas em sacos de papel e transportadas, imediatamente, para o laboratório onde foram limpas com algodão comercial embebido em água desionizada e colocadas para secar a 75° em estufa de circulação forçada de ar por 48 horas. Após secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley, usando peneira de 20 mesh, e depois acondicionadas em recipientes plásticos hermeticamente fechados.

As metodologias adotadas nas análises químicas de nutrientes estão descritas em Malavolta et al. (1997) e Jones Jr. et al. (1991). O N-orgânico foi quantificado por colorimetria utilizando os reagentes de Nessler (Jackson, 1965),

após submeter 100 mg do material vegetal à digestão sulfúrica ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$). Neste mesmo extrato foi quantificado ainda o P colorimetricamente pelo método do azul de molibdato e o K^+ e o Na^+ , por fotometria de emissão de chama. O Ca^{++} e Mg^{++} e os micronutrientes (Zn^{++} , Mn^{++} , Cu^{++} , Fe^{++}) foram quantificados por Espectrofotometria de Absorção Atômica, após submeter 500 mg do material vegetal à digestão Nitro-perclórica ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$). O S (S-SO_4^{-2}) também foi determinado em extrato nitro-perclórico por turbidimetria do sulfato de bário. A determinação do Cl^- foi realizada por titulometria com AgNO_3 , após submeter o tecido vegetal a banho-maria por uma hora; finalmente, o B foi determinado, colorimetricamente, pelo método da Azometina.

2.3.3.2 Teores de nutrientes nos biofertilizantes líquidos

Os nutrientes dos biofertilizantes (T_1 e T_2) foram analisados de forma semelhante, diferenciando apenas no procedimento de obtenção do extrato de análise. A determinação dos nutrientes para obtenção dos teores totais foi realizada por meio de digestão total da amostra de biofertilizante e para a obtenção dos teores solúveis, a determinação foi realizada diretamente no extrato sem passar por digestão (exceto Mo, B e P), após submetê-la à centrifugação de 20.000 rpm e filtração da mesma em membrana Milipore 0,7 μm . Os métodos de determinação dos nutrientes já foram citados anteriormente nas tabelas 3 e 4.

2.3.3.3 Especificação química dos nutrientes nas formulações

Utilizaram-se os dados da concentração total dos nutrientes do biofertilizante comum (T_1) e a concentração solúvel do biofertilizante enriquecido (T_6), além da solução formulada a partir dos minerais adicionados no T_2 (T_4) para realizar a especificação química. Não foram incluídos nesta análise os tratamentos T_3 , por não ter sido realizada análise química e o T_5 , por apresentar a mesma concentração do tratamento T_2 . De posse dessas concentrações, foram calculadas as diluições para 5% e 20% (pH = 5,4), a especificação química das formulações e soluções nutrientes foram obtidas utilizando-se o programa GEOCHEM PC (Parker et al., 1995), onde serão utilizados na interpretação da análise química dos nutrientes dos biofertilizantes e do tecido foliar da planta (Tabela 7: concentração total e livre; mais detalhes: APÊNDICE A).

Tabela 7 - Concentração total e livre¹ de macro (g dm^{-3}) e micronutrientes (mg dm^{-3}) de soluções diluídas para 5% e 20%, com base nos biofertilizantes (T_1 e T_2)² e nas soluções fertilizantes formuladas (T_4 e T_6)², da tabela 5. Essas formulações de biofertilizantes e soluções, além do controle (água desionizada) foram utilizadas na pulverização foliar do feijoeiro comum (cv. BRS Valente) no experimento de casa-de-vegetação. UENF, abril a junho de 2004.

Nutriente ³	Pulverização a 5%						Pulverização a 20%					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
	-----(g dm^{-3})-----											
N-total	0,040	0,039		0,001		0,011	0,160	0,156		0,003		0,042
	0,040	0,039		0,001		0,010	0,160	0,156		0,003		0,042
HPO₄⁻	0,010	0,012		-		0,002	0,041	0,048		-		0,007
	0,009	0,002		-		0,002	0,026	0,001		-		0,000
K⁺	0,048	0,048		-		0,047	0,192	0,192		-		0,188
	0,048	0,048		-		0,047	0,191	0,187		-		0,047
Ca⁺⁺	0,138	0,174		0,307		0,120	0,552	0,696		1,227		0,480
	0,134	0,155		0,263		0,114	0,527	0,584		0,926		0,114
Mg⁺⁺	0,025	0,060		0,039		0,060	0,100	0,240		0,158		0,240
	0,025	0,054		0,035		0,057	0,097	0,207		0,134		0,057
S-SO₄⁻²	0,011	0,100		0,147		0,039	0,044	0,398		0,590		0,154
	0,008	0,070		0,095		0,027	0,026	0,223		0,264		0,027
	-----(mg dm^{-3})-----											
Cl⁻	34,60	239,0		256,0		230,0	138,4	955,0		1022		921,0
	34,50	238,1		255,1		228,8	137,7	943,4		1009		228,8
Zn⁺⁺	0,800	126,1		145,7		114,6	3,20	505,0		582,9		458,2
	0,770	85,39		124,6		106,8	3,00	291,5		469,8		106,8
Mn⁺⁺	0,700	17,60		19,50		14,80	2,80	70,20		78,00		59,20
	0,684	15,46		16,65		13,83	2,69	56,92		62,19		13,83
Cu⁺⁺	0,400	5,25		19,10		0,200	1,600	21,00		76,40		0,800
	0,381	4,49		15,79		0,184	1,428	16,27		58,91		0,184
Fe⁺⁺	9,00	9,60		1,600		3,000	36,00	38,40		6,30		12,20
	7,95	8,52		1,423		2,824	10,76	33,07		5,39		2,820
H₃BO₃	0,430	3,650		35,00		0,400	1,710	14,60		139,9		1,400
	0,430	3,646		34,969		0,400	1,708	14,565		139,620		1,396
Na⁺	6,08	10,50		3,80		9,40	24,30	41,80		15,20		37,50
	6,06	10,40		3,75		9,34	24,19	40,62		14,72		9,34
MoO₄⁻²	0,0003	0,200		7,90		0,100	0,00127	0,600		31,70		0,400
	0,00029	0,191		2,161		0,095	0,00117	0,578		1,254		0,095
Co⁺⁺	-	2,100		2,100		2,100	-	8,400		8,400		8,400
	-	1,795		1,645		1,958	-	6,590		5,540		1,958

⁽¹⁾ Referentes a concentração total e na forma livre do elemento (iônica dissociada), de acordo com procedimento GEOCHEM PC (Parker et al., 1995). ⁽²⁾ T1: biofertilizante sem minerais; T2: biofertilizante com minerais; T3: biofertilizante esterilizado em autoclave a partir do T2; T4: solução formulada a partir dos minerais adicionados no T2; T5: solução formulada a partir dos teores totais dos nutrientes do T2; e T6: solução formulada a partir dos teores solúveis dos nutrientes do T2. ⁽³⁾ A concentração livre dos nutrientes N-total ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$), H_2PO_4^- e H_3BO_3 apresentam-se na forma complexada com H^+ . Os espaços com traço significam que o elemento não foi utilizado no preparo da solução (HPO_4^{2-} e K^+) ou que não foi determinado analiticamente e as colunas em branco do T₅ apresentam valores iguais ao T₂ e as colunas do T₃ não foram realizadas as especiações porque neste tratamento os nutrientes não foram analisados. Para mais detalhes ver APÊNDICE A.

2.3.4 Hipóteses e modelo estatístico (Yassin, 2001)

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \rho_j + \varepsilon_{ij}$$

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_i = \mu$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j, \text{ para pelo menos um par } (i, j)$$

com $i = 1, 2, \dots, I$; $j = 1, 2, \dots, J$.

em que,

y_{ij} = valor observado da característica y , no tratamento i aplicado na repetição j

μ = é uma constante associada a todas as observações;

τ_i = é o efeito do i -ésimo tratamento;

ρ_j = é o efeito do j -ésimo bloco;

ε_{ij} : é o erro experimental associado à observação da variável aleatória y_{ij} , normal e independentemente distribuída com média zero e variância constante.

2.3.5 Análise estatística

Uma análise preliminar foi realizada, aplicando-se os testes de Liliffors para a avaliação dos dados quanto à distribuição normal em torno da média geral e os testes de Cochran e de Bartlett para a avaliação da homogeneidade das variâncias dos tratamentos. O procedimento de análise de variância (ANOVA) e desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos foi realizado separadamente para as concentrações de 5% e 20% (Tabela 8). A formulação dos contrastes ortogonais para desdobramento dos seis graus de liberdade dos tratamentos e a determinação dos coeficientes dos contrastes foi realizada *a priori* (Tabela 9). Calculou-se também a DMS para o teste de Tukey a 5% de probabilidade. O teste *t de student* a 5% de probabilidade foi utilizado para testar a significância dos contrastes formulados (Stell & Torrie, 1997; Banzatto & Kronka, 1995), conforme abaixo:

$$t = \frac{\hat{C}_i - 0}{\sqrt{\hat{V}(\hat{C}_i)}}, \text{ onde } \hat{C}_i \text{ é o contraste estimado e } \hat{V}(\hat{C}_i) \text{ a estimativa da variância}$$

do contraste estimado.

Tabela 8 - Quadro demonstrativo da análise de variância das variáveis respostas em função de seis formulações e soluções e um tratamento controle (6+1). Procedimento realizado separadamente para as concentrações de 5% e 20%. Experimento conduzido em casa-de-vegetação

Fontes de Variação	GL	SQ	QM	F	p-valor ¹
Bloco	3				
Formulações	5				
Tratamento vs Adicional (Todos tratamentos)	1				
Resíduo	(6)				
	18		QM_{res}		
Total	27				

⁽¹⁾ p-valor refere-se ao menor valor de α para o qual rejeitamos a hipótese nula (Stell & Torrie, 1997).

Tabela 9 - Quadro demonstrativo dos coeficientes dos contrastes ortogonais (a_i , b_i , ..., f_i) formulados e o esquema de estimação das variâncias dos contrastes estimados para a concentração de 5% e 20%, referentes ao experimento conduzido em casa-de-vegetação. Abaixo, encontram-se as hipóteses teóricas formuladas para cada contraste testado.

Contrastes ¹	Controle	T1	T2	T3	T4	T5	T6	GL	$\hat{V}(\hat{C}_i)$
C₁: Controle vs demais	+6	-1	-1	-1	-1	-1	-1	1	$QM_{res} \sum_{i=1}^7 a_i^2 / r$
C₂: T₁T₂T₃vsT₄T₅T₆	0	+1	+1	+1	-1	-1	-1	1	$QM_{res} \sum_{i=1}^7 b_i^2 / r$
C₃: T₁ vs T₂T₃	0	+2	-1	-1	0	0	0	1	...
C₄: T₂ vs T₃	0	0	+1	-1	0	0	0	1	...
C₅: T₄ vs T₅T₆	0	0	0	0	+2	-1	-1	1	...
C₆: T₅ vs T₆	0	0	0	0	0	+1	-1	1	$QM_{res} \sum_{i=1}^7 f_i^2 / r$

Contrastes ¹	Hipótese Ho:
C₁: Controle vs demais	Há efeito entre os tratamentos?
C₂: T₁T₂T₃vsT₄T₅T₆	O efeito é devido à fração orgânica ou mineral?
C₃: T₁ vs T₂T₃	Há efeito dos minerais do biofertilizante enriquecido?
C₄: T₂ vs T₃	Há efeito da esterilização do biofertilizante enriquecido?
C₅: T₄ vs T₅T₆	O efeito é devido aos nutrientes adicionados/determinados?
C₆: T₅ vs T₆	O efeito é devido à fração total ou solúvel dos nutrientes?

⁽¹⁾ Condição para contrastes ortogonais $\sum_{i=1}^n \frac{a_i b_i}{r_i} = 0$ (Nogueira, 2004)

2.4 Experimento de campo

2.4.1 Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no campo, em um Neossolo Flúvico tb de baixa saturação por bases, situado na Estação Experimental de Pesquisa da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro situada na PESAGRO, em Campos dos Goytacazes, RJ. O experimento foi arranjado em esquema fatorial 2x4, onde foram testadas duas formulações de biofertilizante líquido (T_1 : BIO SM e T_2 : BIO CM) e quatro concentrações (0; 5%; 10%; e 20%), em pulverizações foliares do feijoeiro (cv. Paina, Tipo II). A unidade experimental (UE) foi constituída por 10 linhas de feijoeiro de quatro metros de comprimento por meio metro de espaçamento (20 m^2). A parcela útil foi constituída pelas seis linhas centrais da UE, descartando-se meio metro de cada extremidade (9 m^2). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições.

2.4.2 Condições de cultivo e aplicação dos tratamentos

As plantas de feijão foram cultivadas em campo, onde as condições climáticas do local durante o período (10 setembro a 8 de dezembro de 2004) de condução do experimento foram: temperatura média mínima $19,3^\circ \text{C}$ e média máxima de $28,6^\circ \text{C}$; Precipitação pluviométrica total 164 mm; Umidade relativa do ar média de 77,7%, e Radiação solar média de 215 W m^{-2} . Os dados mais detalhados do clima podem ser vistos na figura 1 deste trabalho. Os dados climáticos (precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar, radiação solar e temperaturas máxima e mínima) de Campos dos Goytacazes referentes ao período de condução do experimento de campo estão na Figura 1 (Estação Meteorológica da Pesagro – Campos).

A adubação no sulco de plantio foi realizada aplicando-se 20 kg ha^{-1} de N na forma de sulfato de amônio, 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 na forma de superfosfato simples e 20 kg ha^{-1} de K_2O na forma de cloreto de potássio e, na adubação de cobertura, 40 kg ha^{-1} de N na forma de sulfato de amônio, aos 20 d.a.e. (estádio V3/V4). A adubação foi realizada de acordo com o resultado de análise química

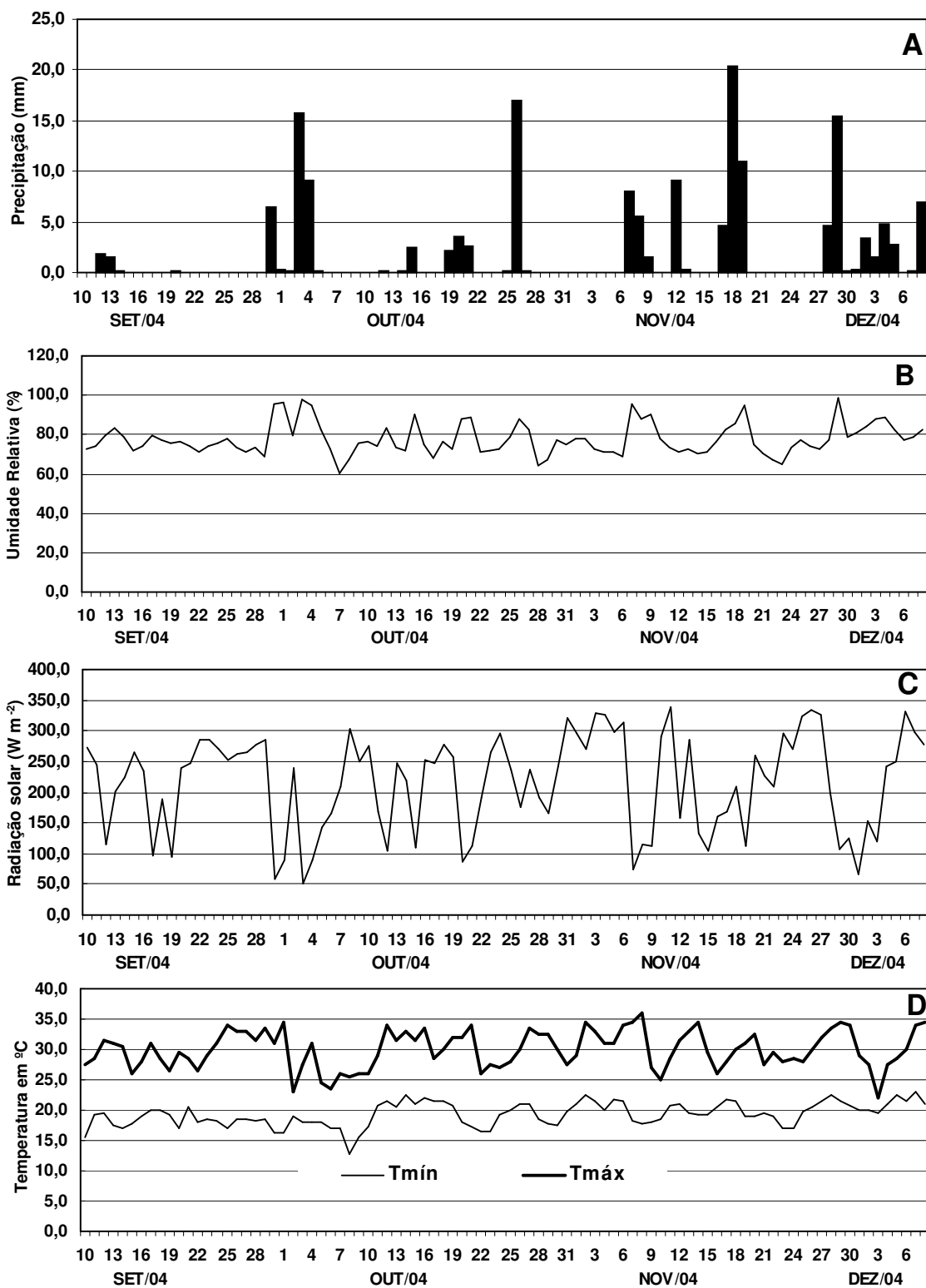


Figura 1 - Dados climáticos de Campos dos Goytacazes-RJ, referente ao período de condução do experimento de campo: precipitação pluviométrica (A), umidade relativa (B), radiação solar (C) e temperaturas máxima e mínima (D). UENF, setembro a dezembro de 2004.

do solo (Tabela 2) e as recomendações de adubação para a cultura do feijoeiro no Estado do Rio de Janeiro (De-Polli et al., 1988). A área do plantio foi preparada com uma aração e duas gradagens. A semeadura foi realizada manualmente em 10 de setembro e a emergência ocorreu em 17 de setembro de 2004. A densidade linear de plantio foi de 15 sementes por metro. Após uma semana da emergência realizou-se o desbaste deixando-se 12 plantas por metro linear (240 mil plantas ha⁻¹). Não foi realizada calagem.

As pulverizações foliares dos tratamentos com as duas formulações de biofertilizantes foram realizadas nos seguintes estádios fenológicos: a primeira pulverização foi realizada quando as plantas apresentaram o segundo trifolíolo completamente expandido, (25 d.a.e – V3/V4) e a segunda, no início da floração (30 d.a.e – V4/R5).

As pulverizações foliares com biofertilizantes foram realizadas com auxílio de pulverizador costal com capacidade de 20 litros. O volume médio de solução pulverizada foi de 600 litros por hectare e o horário das pulverizações sempre foi às 18:00 horas, com temperatura média em torno de 24^o C e umidade relativa de 85%. Não foi adicionado nenhum tipo de aditivo e/ou espalhante adesivo.

O controle das plantas daninhas foi realizado por meio de capina manual, duas vezes durante o ciclo da cultura, a primeira aos 20 e a segunda aos 30 d.a.e.

O manejo da irrigação foi realizado por aspersão convencional, duas vezes por semana (terça-feira e sexta-feira), de acordo com a necessidade da cultura e condições climáticas. A colheita final foi realizada em 08/12/2004 (82 d.a.e).

2.4.3 Variáveis analisadas

No início do florescimento (35 d.a.e. – estágio R6) foi realizada amostragem de folhas de feijoeiro para a análise de nutrientes (N-NH₄⁺, P, K⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, S-SO₄⁻², B, Cl⁻, Cu⁺⁺, Fe⁺⁺, Mn⁺⁺, e Zn⁺⁺). Coletou-se o primeiro trifolíolo completamente expandido no sentido do ápice para a base da planta em cada parcela útil (10 trifolíolos). O procedimento metodológico adotado para preparo do material e análise de nutrientes foi o mesmo do experimento anterior (casa-de-vegetação). Posteriormente, aos 38 d.a.e. (R5) foram coletadas quatro plantas na área de cada parcela útil, em pontos dispostos em “X” e enviados para

o laboratório, onde foi medida a área foliar (cm²) com auxílio do medidor de área foliar (MODEL 3100 / LI-COR®). O índice de área foliar (m² de folhas por m² de solo) foi estimado considerando uma densidade de 240.000 plantas por hectare.

A colheita do experimento foi realizada na parcela útil, ou seja, descartou-se as duas linhas laterais e meio metro de cada extremidade (9 m²) da unidade experimental. Primeiramente foram coletadas 10 plantas de cada parcela útil para a contagem do número médio de vagens por planta (NVP), do número médio de grãos por vagem (NGV), do número de grãos por planta (NGP) e para o peso de 100 grãos (MG100); posteriormente, a produtividade de grãos (em kg ha⁻¹) foi estimada com base no peso de grãos obtido na parcela útil, depois de ajustado o teor de umidade para 13%.

2.4.4 Hipóteses e modelo estatístico (Stell & Torrie, 1997)

$$y_{ijk} = \mu + \rho_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

H₀: $(\alpha\beta)_{ij} = 0$, para todo i, j

H₁: $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$, para pelo menos um par (i, j)

com $i = 1, 2, \dots, I$; $j = 1, 2, \dots, J$; $k = 1, 2, \dots, K$

em que:

y_{ijk} : é o valor observado do nível i do fator A combinado com o nível j do fator B na repetição k ;

μ : é uma constante associada a todas as observações;

ρ_j = é o efeito do j -ésimo bloco;

α_i : é o efeito do i -ésimo nível do fator A;

β_j : é o efeito do j -ésimo nível do fator B;

$(\alpha\beta)_{ij}$: é o efeito da interação entre o i -ésimo nível do fator A e o j -ésimo nível do fator B;

ε_{ijk} : é o erro experimental associado à observação da variável aleatória y_{ijk} , normal e independentemente distribuída com média zero e variância constante.

2.4.5 Análise estatística

Uma análise preliminar foi realizada, semelhante aos dados do experimento de casa-de-vegetação. A análise estatística foi realizada pelo

procedimento de análise de variância (ANOVA), considerando um fatorial constituído por duas formulações de biofertilizantes versus quatro concentrações (Tabela 10). Posteriormente, procedeu-se o desdobramento dos graus de liberdade da interação por meio da ANOVA (Tabela 10) e verificou-se o efeito dos níveis do fator quantitativo (concentração de biofertilizante) dentro de cada formulação de biofertilizante (T_1 e T_2), por meio dos polinômios ortogonais (Tabela 11), ajustando-se modelo de regressão linear ou quadrático, tomando-se como critério o menor p-valor (α máximo de 5%) e o maior valor do coeficiente de determinação (R^2). Nos casos em que não foi possível ajustar um modelo de regressão significativo até o segundo grau do polinômio, estimou-se a média e o seu valor foi plotado no gráfico, uma reta paralelamente ao eixo da abscissa (x). Os coeficientes dos polinômios ortogonais foram estimados segundo a metodologia proposta por Mischan & Pinho (1984) (Tabela 11).

Tabela 10 - Quadro demonstrativo da análise de variância das variáveis respostas do experimento de campo, considerando o efeito fatorial de duas formulações de biofertilizantes e quatro concentrações.

Fontes de Variação	GL	SQ	QM	F	p-valor
Bloco	3				
Biofertilizante (B)	1				
Concentração (C)	3				
Interação B x C	3				
C/(B=1)	3				
C/(B=2)	3				
Resíduo	21		QM_{res}		
Total	31				

Tabela 11 - Quadro demonstrativo dos coeficientes dos contrastes dos polinômios ortogonais estimados ajustando-se modelos de regressão para efeito linear e quadrático, em função de quatro níveis de concentração (0, 5%, 10% e 20%). Coeficientes estimados segundo metodologia proposta por Mischan & Pinho (1984).

Efeito	Concentração				GL	SQ ¹	QM	F	p-valor
	0%	5%	10%	20%					
Linear	-7	-3	1	9	1	$(\sum_{i=1}^4 a_i T_i)^2 / r \sum_{i=1}^4 a_i^2$			
Quadrático	7	-4	-8	5	1	$(\sum_{i=1}^4 b_i T_i)^2 / r \sum_{i=1}^4 b_i^2$			

⁽¹⁾ Os símbolos a e b referem-se aos coeficientes dos polinômios ortogonais linear e quadrático, respectivamente; T corresponde ao total da concentração de nível i.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeitos sobre o teor foliar de macronutrientes

3.1.1 Experimento em casa-de-vegetação (cv. BRS Valente)

Houve efeito significativo ($P < 0,05$) da aplicação foliar de biofertilizantes e soluções nutrientes (formuladas) para a maioria dos macronutrientes, independente da concentração usada.

Há efeito entre os tratamentos? No contraste C_1 (Controle vs demais), observa-se pelo que a aplicação foliar de biofertilizantes e soluções nutrientes diluídas a 5%, houve redução significativamente ($P < 0,01$) dos teores foliares de P, K, Ca, Mg, e S (Tabela 12), e quando a diluição foi de 20%, os resultados foram semelhantes para os teores de K, Ca, Mg, e S, entretanto, o teor de N-orgânico aumentou significativamente ($P < 0,01$) com a aplicação a 20%. Isso indica que, de maneira geral, a aplicação foliar dos biofertilizantes (T_1 , T_2 e T_3) e soluções nutrientes (T_4 , T_5 e T_6), reduziu os teores foliares de macronutrientes, em relação ao tratamento controle (água).

No contraste C_2 : (T_1 T_2 T_3) x (T_4 T_5 T_6), procura-se investigar se o efeito é devido à fração orgânica ou mineral. Assim, os teores P, Ca, Mg e S foram significativamente ($P < 0,01$) menores com a pulverização a 5% dos biofertilizantes (1,87; 15,42; 3,99 e 1,53 g kg⁻¹, respectivamente) em relação às soluções nutrientes (2,19; 16,75; 4,45 e 1,85 g kg⁻¹, respectivamente), no entanto, o efeito foi inverso, quando a concentração utilizada foi de 20%, ou seja, as pulverizações com biofertilizantes proporcionaram teores médios de N-orgânico, Ca, Mg e S (33,9; 16,4; 4,44; 1,87 g kg⁻¹, respectivamente) significativamente maiores em relação às soluções nutrientes (30,1; 15,3; 4,19; 1,70 g kg⁻¹, respectivamente) (Tabela 13). Esses resultados do segundo contraste indicam que a aplicação foliar de biofertilizante a 20% pode ser uma estratégia mais interessante que a solução nutriente (de composição de nutrientes semelhante), pois proporciona teores foliares mais elevados para a maioria dos macronutrientes, mas, apesar disso, não resultou em aumento significativo da produção ($P > 0,05$).

A inversão da resposta da aplicação dos biofertilizantes e das soluções (C_2) a 5% em relação a 20%, pode estar relacionada com a concentração livre dos nutrientes, ou seja, com a disponibilidade dos nutrientes na forma iônica.

Tabela 12 - Quadrado médio (QM) da análise de variância geral (ANOVA) e contrastes ortogonais estimados (\hat{C}_i) do desdobramento dos seis graus de liberdade dos tratamentos das fontes de variação da produção de grãos (g vaso⁻¹) e dos teores foliares de macronutrientes (g kg⁻¹) em feijoeiro comum (cv. BRS Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de seis formulações e soluções a concentração de 5 e 20%. UENF, abril a junho de 2004.

F. Variação	GL	Produção	N-NH ₄ ⁺	P	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	S-SO ₄ ⁻²
----- Pulverização a 5% -----								
Bloco	3	0,8722	9,7565	0,0318	3,1786	1,3690	0,0652	0,0214
Formulação	5	2,3983^{ns}	9,2068^{ns}	0,353^{**}	5,667^{**}	8,567^{**}	0,753^{**}	0,515^{**}
Tratamentos (7)	6	2,0333^{ns}	8,9367^{ns}	0,336^{**}	15,452^{**}	11,202^{**}	0,773^{**}	0,538^{**}
Trat.* Adicional	1	0,2081^{ns}	7,5863^{ns}	0,252^{**}	64,381^{**}	24,381^{**}	0,872^{**}	0,656^{**}
<i>C₁: Contr. vs demais</i>	1	-1,478	8,925	1,625	26,000	16,000	3,025	2,625
<i>C₂: T₁T₂T₃ vs T₄T₅T₆</i>	1	0,034	4,675	-0,975 ^{**}	0,500	-4,000 ^{**}	-1,375 ^{**}	-0,975 ^{**}
<i>C₃: T₁ vs T₂T₃</i>	1	0,528	-5,375	0,475 ^{**}	0,000	2,500	1,000	0,525
<i>C₄: T₂ vs T₃</i>	1	-0,306	-1,125	0,025	0,000	-2,500 ^{**}	-0,400 ^{**}	-0,025
<i>C₅: T₄ vs T₅T₆</i>	1	-1,876	-2,125	0,325 ^{**}	-3,250	0,750	0,600	0,450
<i>C₆: T₅ vs T₆</i>	1	-2,153	-1,825	0,675 ^{**}	3,250	2,750	0,800	0,900
Resíduo	18	0,9126	5,0890	0,0071	0,9286	0,6468	0,0058	0,0109
Média geral	-	2,211	27,23	2,07	18,54	16,46	4,29	1,75
CV(%)	-	43,21%	8,29%	4,06%	5,20%	4,88%	1,77%	5,96%
----- Pulverização a 20% -----								
Bloco	3	0,8911	7,6667	0,0242	3,7500	2,2262	0,0356	0,0299
Formulação	5	0,8475^{ns}	159,10^{**}	0,148^{**}	16,667^{**}	2,967^{**}	0,152^{**}	0,138^{**}
Tratamentos (7)	6	0,7596^{ns}	139,53^{**}	0,127^{**}	14,905^{**}	7,333^{**}	0,222^{**}	0,181^{**}
Trat.* Adicional	1	0,3198^{ns}	42,00^{**}	0,017^{ns}	6,095[*]	29,167^{**}	0,572^{**}	0,400^{**}
<i>C₁: Contr. vs demais</i>	1	1,832	-21,000	0,425	8,000	17,500	2,450	2,050
<i>C₂: T₁T₂T₃ vs T₄T₅T₆</i>	1	0,640	11,500 ^{**}	0,075	2,000	3,500 ^{**}	0,750 ^{**}	0,500 ^{**}
<i>C₃: T₁ vs T₂T₃</i>	1	-1,050	-23,750 ^{**}	-0,500 ^{**}	0,000	1,750	-0,275	-0,350
<i>C₄: T₂ vs T₃</i>	1	-0,988 ^{10%}	3,250 ^{**}	0,000	-2,500 ^{**}	-0,750	0,375 ^{**}	0,250
<i>C₅: T₄ vs T₅T₆</i>	1	0,650	21,500 ^{**}	-0,425 ^{**}	-1,750	-1,500	-0,275	-0,225
<i>C₆: T₅ vs T₆</i>	1	0,705	-1,000	0,475 ^{**}	5,750	1,000	0,025	0,375 ^{**}
Resíduo	18	0,5980	0,3611	0,0075	1,1111	0,3651	0,0098	0,0168
Média geral	-	1,738	31,50	2,24	21,11	16,25	4,38	1,83
CV(%)	-	44,50%	1,91%	3,87%	4,99%	3,72%	2,26%	7,08%

^(ns) Não significativo; ^(*) significativo a 5% de probabilidade; e ^(**) significativo a 1% de probabilidade.

Assim, a mistura de duas ou mais espécies químicas pode dar origem às formas complexas estáveis, alterar o equilíbrio químico da solução e diminuir a disponibilidade de alguns nutrientes, conseqüentemente, reduzir a absorção dos mesmos pela folha (Marschner, 1995).

De acordo com os dados de especiação química (GEOCHEN PC), os biofertilizantes e as soluções nutrientes, apresentaram redução de 15% na disponibilidade dos nutrientes com aumento da concentração de 5% para 20%. O decréscimo médio dos macronutrientes dos biofertilizantes T₁, T₂ e T₃ foi menor (7,3%) que das soluções T₄, T₅ e T₆ (24,4%); de forma semelhante para os

micronutrientes, redução de 5,8% e 24,6%, respectivamente. Além disso, a disponibilidade de micronutrientes foi superior aos macronutrientes em 10% (em termos relativos), para os biofertilizantes, enquanto para as soluções nutrientes, a disponibilidade caiu para 5% (Tabela 7). Esses resultados estão de acordo com os teores foliares de macronutrientes observados no experimento, indicando que a composição de nutrientes do biofertilizante é superior ao de uma solução com composição química semelhante, considerando a concentração da calda de 20%.

Alguns pesquisadores trabalhando com aplicação foliar de biofertilizante líquido, já tinham observado que, para maioria das culturas, a concentração ideal da calda situa-se entre 5% e 10% para biofertilizantes enriquecidos (Fernandes, 2003) e entre 10% e 30% para biofertilizante bovino (Santos, 1992; Santos & Akiba, 1996). Entretanto, nenhum trabalho discutiu até o momento, detalhes da composição química dos nutrientes do biofertilizante, interferindo no equilíbrio nutricional da planta.

Nesse experimento, o contraste biofertilizantes vs soluções nutrientes, na concentração de 20%, os teores de macronutrientes foliares foram maiores em relação à concentração de 5%, indicando que, existem na composição do biofertilizante outras substâncias além dos nutrientes que atuam sobre a planta, possivelmente microrganismos, substâncias orgânicas, com propriedades de ação no metabolismo da planta, conforme discutidos por Nardi et al. (2002), que relatam que substâncias húmicas podem exercer inúmeras funções nas plantas, dentre elas estimular a absorção de nutrientes, confirmando os resultados observados neste trabalho.

No terceiro contraste (T_1) x (T_2 T_3) (Tabela 12), deseja-se saber se há efeito da adição de minerais no biofertilizante enriquecido. Com base nos resultados, observa-se que a aplicação foliar de biofertilizante enriquecido com minerais (T_2 T_3) somente resultou em aumento significativo ($P < 0,05$) dos teores foliares de macronutrientes quando foi utilizada a concentração de 20%. Por outro lado, a aplicação foliar do biofertilizante comum (T_1) a 5%, resultou em teores foliares significativamente ($P < 0,05$) superiores de P, Ca, Mg e S. O teor foliar de N-orgânico não apresentou a mesma tendência dos demais macronutrientes. Nas duas concentrações, a aplicação do biofertilizante comum resultou em maiores teores ($P < 0,05$). Uma observação interessante está no fato que, a concentração dos nutrientes do biofertilizante enriquecido é ligeiramente maior, com exceção do

nitrogênio total. Esses dados da análise química são semelhantes aos resultados observados no segundo contraste, em que os biofertilizantes resultaram em maiores teores foliares de macronutrientes.

No quarto contraste (T_2) x (T_3), pergunta-se, há efeito da esterilização do biofertilizante enriquecido? Na concentração de 5% não houve diferença significativa ($P > 0,05$) devido a esterilização para os teores foliares de N, P, K e S; no entanto, os teores de Ca e de Mg foram significativamente superiores ($P < 0,01$) com a esterilização do biofertilizante (T_3), em relação ao mesmo biofertilizante sem esterilização (T_2) (Tabela 12). Entretanto, quando se aumentou a concentração do biofertilizante para 20%, os teores foliares de macronutrientes apresentaram-se de maneira diferente da concentração de 5%; houve decréscimo significativo dos teores foliares de N-orgânico, de magnésio ($P < 0,01$) e de enxofre ($P < 0,05$), enquanto para o potássio, o teor foi significativamente superior ($P < 0,01$), com a pulverização do biofertilizante esterilizado a 20% (Tabela 12).

No quinto e no sexto contrastes há confrontos dos teores de nutrientes foliares das plantas que receberam as formulações de fertilizantes, elaboradas a partir da quantidade adicionada de minerais (T_4) e da análise química do biofertilizante enriquecido (T_5 , T_6) e assim, deseja-se saber se o efeito é devido aos nutrientes que foram adicionados no preparo do biofertilizante ou aqueles determinados pela análise química (C_5) ou ainda se o efeito é devido à fração total ou solúvel dos nutrientes presentes no biofertilizante (C_6). A aplicação a 5% da solução T_4 , em relação à média das soluções T_5 e T_6 , resultou em aumento significativo ($P < 0,01$) dos teores de P, Mg e S, e redução ($P < 0,05$) do teor de K. No entanto, a 20%, houve aumento significativo somente do teor de N-orgânico ($P < 0,01$) e redução dos teores de P ($P < 0,01$) e de Mg ($P < 0,05$), apresentando efeito oposto da aplicação a 5%. E que, a aplicação da solução dos teores totais (T_5), foi significativamente ($P < 0,01$) superior ao da solução dos teores solúveis (T_6), nas duas concentrações testadas (5% e 20%) para todos os macronutrientes, exceto N-orgânico (Tabela 12). Os demais macronutrientes não apresentaram resultados significativos ($P > 0,05$). A especiação química da solução T_4 mostrou forte interação do Ca com molibdato, indicando que parte da concentração total de Mo do biofertilizante enriquecido estava complexado com Ca (Tabela 3, 4 e 7), possivelmente seja um dos motivos dos menores teores

foliares de Ca ($P < 0,05$) observados nas plantas que receberam aplicação foliar de biofertilizante enriquecido, comparado com o biofertilizante comum (Tabela 13).

Os resultados observados para o teor de K (contraste C_5) foram os que se esperava, segundo a composição da solução. Como a solução do tratamento T_4 não recebeu nenhuma fonte de K, a concentração, foi zero (Tabela 7 e 13), por isso apresentou menor teor, comparado com a média das soluções T_5 e T_6 (Tabela 13). Contudo, os resultados foram semelhantes com os teores dos macronutrientes do sexto contraste ($T_5 \times T_6$), independente da concentração usada. O efeito superior do tratamento T_5 tem explicação novamente na composição da solução, que apresentou maior concentração desses nutrientes na solução (Tabela 7 e 13), resultando em maiores teores foliares de nutrientes. Esses resultados estão de acordo com Rosolem (2002), que concluiu que existe uma estreita relação, dentro de certos limites, entre a concentração da solução e a quantidade de nutrientes absorvida pelas folhas.

Os teores dos macronutrientes (g kg^{-1}) observados nas plantas situaram ligeiramente abaixo do limite inferior (principalmente o enxofre, com média de $1,8 \text{ g kg}^{-1}$) da faixa considerada adequada, para o feijoeiro em condições de campo, de acordo com Malavolta et al. (1997): N = 30 a 50; P = 2 a 3; K = 20 a 25; Ca = 15 a 20; Mg = 4 a 7; e S = 5 a 10. Em casa-de-vegetação, as plantas passam por diversos tipos de estresses, dois quais, limitação do crescimento radicular, competição entre plantas pelos diversos fatores do solo e do ar, além da baixa fertilidade da terra utilizada no experimento (Tabela 2), apresentando baixos teores da maioria dos macronutrientes, alto teor de Al^{+3} trocável ($3,0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$) e também pela baixa dose de adubação de base no solo do vaso.

É importante destacar aqui que a forte interação de Ca e outros nutrientes entre si e com a matéria orgânica é um bom motivo de discussão sobre a quantidade e a forma como os minerais estão sendo adicionados no preparo dos biofertilizantes enriquecidos. A cal hidratada adicionada toda de uma só vez no final do preparo, assim como os outros minerais adicionados anteriormente, pode provocar intensas transformações sobre as características físicas, químicas e biológicas do biofertilizante, o que pode tornar o produto com menor diversidade de microrganismos, principalmente os benéficos, assim como a complexação dos nutrientes com substâncias orgânicas e inorgânicas presentes no biofertilizante e liberadas pelos microrganismos. Para resolver essas questões, mais pesquisas

Tabela 13 - Médias de tratamentos das variáveis produção de grãos (g vaso^{-1}) e dos teores foliares de macronutrientes (g kg^{-1}) em feijoeiro comum (cv. Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de seis formulações e soluções a concentração de 5 e 20%. UENF, abril a junho de 2004.

Tratamentos	Produção	N-NH ₄ ⁺	P	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	S-SO ₄ ⁻²
----- Pulverização a concentração de 5% -----							
Controle	2,00	28,5	2,30	22,3	18,8	4,73	2,13
T ₁	2,43	26,0	2,03	18,0	16,3	4,33	1,70
T ₂	2,01	28,1	1,80	18,0	13,8	3,63	1,43
T ₃	2,32	29,3	1,78	18,0	16,3	4,03	1,45
T ₄	1,62	25,5	2,30	16,8	17,0	4,65	2,00
T ₅	1,48	25,7	2,48	20,0	18,0	4,75	2,23
T ₆	3,63	27,5	1,80	16,8	15,3	3,95	1,33
Média	2,21	27,2	2,07	18,5	16,5	4,29	1,75
d.m.s. (Tukey;5%)	2,23	5,3	0,20	2,3	1,88	0,18	0,24
----- Pulverização a concentração de 20% -----							
Controle	2,00	28,5	2,30	22,3	18,8	4,73	2,13
T ₁	1,45	26,0	2,08	21,3	17,0	4,35	1,75
T ₂	1,48	39,5	2,33	20,0	15,8	4,68	2,05
T ₃	2,47	36,3	2,33	22,5	16,5	4,30	1,80
T ₄	1,80	37,3	2,08	20,0	14,8	4,10	1,63
T ₅	1,83	26,0	2,53	23,8	16,0	4,25	1,93
T ₆	1,13	27,0	2,05	18,0	15,0	4,23	1,55
Média	1,74	31,5	2,24	21,1	16,3	4,38	1,83
d.m.s. (Tukey;5%)	1,81	1,4	0,20	2,5	1,4	0,23	0,30

deverão ser realizadas com esse propósito, estudar mais detalhadamente os ingredientes adicionados, as alterações provocadas nas características do biofertilizante durante e no final do processo de fermentação, além da finalidade do produto final.

3.1.2 Experimento de campo (cv. Paina)

A análise de variância (ANOVA), revelou efeito de interação significativa ($P < 0,05$) para biofertilizante x concentração, somente para o teor de potássio (Figura 02-C). Pela análise isolada dos fatores, houve efeito significativo ($P < 0,05$) entre biofertilizantes sobre os teores de Ca e Mg (Figuras 2-D e 2-E), no entanto, não houve diferença entre os biofertilizantes ($P > 0,05$), indicada pelos teores foliares de N, P, K e S. Portanto, as possíveis diferenças, entre os níveis do fator concentração dos biofertilizantes (0, 5%, 10%, 20%), são reveladas com auxílio dos modelos de regressão (Stell & Torrie, 1997).

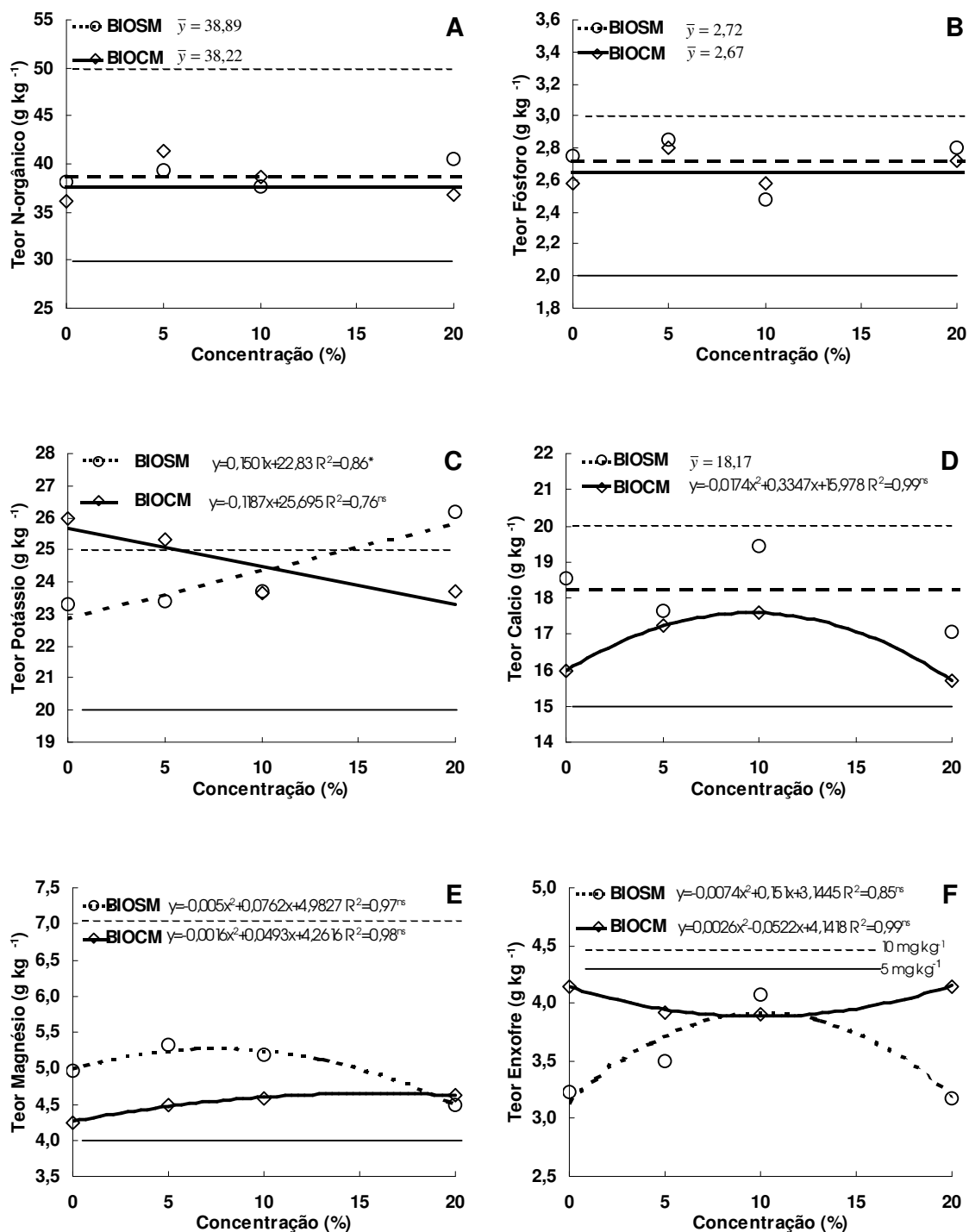


Figura 02 - Teores foliares de macronutrientes (g kg⁻¹) em feijoeiro comum (cv. Paina) aos 35 d.a.e (início do florescimento – R6) do experimento de campo, em função da pulverização de quatro concentrações (0%; 5%; 10%; e 20%) de biofertilizantes (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido). As barras no gráfico referem-se ao teor do nutriente considerado nível crítico e limite de luxo (Malavolta, 1997). Significância teste F: P>0,05 (ns), P<0,05(*) e P<0,01(**). UENF, setembro a dezembro de 2004.

A aplicação do biofertilizante comum aumentou linearmente ($P < 0,05$) os teores de K nas folhas de feijoeiro, enquanto a aplicação do biofertilizante enriquecido houve uma tendência de redução ($P > 0,05$) dos teores de K com o aumento da concentração (Figura 2-C). Esses resultados do biofertilizante enriquecido, com a cultivar Paina, estão de acordo com aqueles anteriormente observados no experimento de casa-de-vegetação, com a cultivar BRS Valente, pois, a aplicação foliar dos dois biofertilizantes também resultou na diminuição dos teores de K: redução de 19,1% (18 g kg^{-1}) com a aplicação a 5%, independente do biofertilizante; redução de 4,5% ($21,3 \text{ g kg}^{-1}$) com a aplicação do biofertilizante comum e de 10,1% ($20,0 \text{ g kg}^{-1}$) com o biofertilizante enriquecido, ambos a 20%, em relação ao controle ($22,3 \text{ g kg}^{-1}$) (Tabela 13). Contudo, a magnitude no experimento de campo foi de redução de 9,2% e aumento de 13,1% ($P > 0,05$) para biofertilizante enriquecido e biofertilizante comum, respectivamente (Figura 02-C). Esses resultados confirmam os dados obtidos por Cruz et al. (2003), que também observaram diminuição significativa de 12,7% ($P < 0,05$) nos teores de K em frutos de pimentão, submetidos a pulverizações semanais, utilizando o biofertilizante enriquecido Agrobio® a 5%. No entanto, Duarte Júnior (2002), estudou o efeito da aplicação de Agrobio® na cultura do feijoeiro e observou aumento linear dos teores de K, em função do aumento da concentração do biofertilizante (0%; 2%; 4% e 6%), contrariando com os resultados obtidos nesse trabalho, uma vez que observamos diminuição dos teores de K com aplicação do biofertilizante enriquecido (Figura 2-C). Em outro trabalho, Dias et al. (2003) estudaram a aplicação foliar semanal de duas formulações de biofertilizantes produzidos na Pesagro-Rio (Agrobio® e Biofertilizante Pesagro) e quatro concentrações (0, 30%, 40% e 70%) em alfafa cultivar Crioula e não observaram diferenças significativas de teor de K nas plantas.

Uma possível explicação do baixo teor de K nas plantas pulverizadas com biofertilizante enriquecido pode estar fundamentada na interação da absorção de K e de Zn. Os teores de K e de Zn nas folhas foram inversamente proporcionais, indicando uma possível inibição da absorção do K pelo Zn, considerando que a concentração de Zn do biofertilizante enriquecido é extremamente alta, o que difere do biofertilizante comum (Tabelas 3 e 4). Fageria (2002) observou

diminuição dos teores foliares de potássio em arroz com aumento da dose de zinco.

É importante salientar que, se a concentração aplicada do biofertilizante não for superior a 10%, nas condições que foram conduzidos esse experimento de campo, os teores adequados de potássio nas plantas de feijoeiro podem ser assegurados, e assim, não comprometer o equilíbrio nutricional das plantas e, conseqüentemente, o rendimento da cultura. Mesmo na dose zero dos biofertilizantes, os teores de K estavam próximos a faixa de suficiência, indicando que a planta absorveu K do solo, apresentando bons níveis foliares. O potássio é o segundo elemento mais absorvido pelo feijoeiro, sendo o primeiro o nitrogênio. Suas principais funções na planta são: regular o potencial osmótico e o balanço iônico, regulação do potencial osmótico celular, abertura e fechamento dos estômatos e também participa como ativador de mais de 60 enzimas, principalmente envolvidas na respiração e fotossíntese (Taiz & Zeiger, 2004).

A aplicação de biofertilizante (comum ou enriquecido) não influenciou os teores de N-orgânico (média de $38,5 \text{ g kg}^{-1}$), fósforo (média de $2,65 \text{ g kg}^{-1}$) e cálcio (média de $17,8 \text{ g kg}^{-1}$) (Figuras 2-A; 2-B). Os teores de magnésio e de enxofre também não foram influenciados significativamente ($P > 0,05$) pela aplicação dos biofertilizantes.

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Duarte Júnior (2002) com aplicação de agrobio em feijão e por Dias et al. (2003), em alfafa, em que não observaram respostas significativas ($P < 0,05$) com a aplicação foliar de biofertilizantes, sobre as alterações dos teores de N, P e S nas plantas. Essa resposta se deve em parte, ao fato de o biofertilizante enriquecido apresentar baixa concentração, tanto de nitrogênio, quanto de enxofre, causado provavelmente, pelas perdas durante o processo de fermentação do biofertilizante. Pois, mais de 40% do enxofre adicionado ao biofertilizante, foi perdido durante o seu preparo, possivelmente, na forma de gases (Tabelas 3, 5 e 7). Além dessas perdas (40%), interações entre elementos podem ocorrer, como a complexação, a precipitação causando redução da concentração livre dos nutrientes na forma iônica (dados por GEOCHEM PC). Grande parte do enxofre presente no biofertilizante enriquecido pode estar na forma de sulfato complexado com o cálcio (15,4% a 22,5%) ou com o magnésio (7,1 a 10,4%). Somente com o aumento da concentração da calda, de 5% para 20%, grande parte do fósforo

pode ter sido complexado na forma sólida com zinco (75% a 98%), reduzindo significativamente a sua concentração livre ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$) de 20,8% para 1,56%, respectivamente. No entanto, a redução da concentração livre de zinco (Zn^{++}) foi baixa (de 32,3% para 42,3%, respectivamente).

A Tabela 3 mostra a análise do teor de nitrogênio “solúvel”, com valores máximos de 0,027% (diluídos a 5% ou 20%) e de 0,021% (diluídos a 5% ou 20%), para biofertilizante comum e biofertilizante enriquecido, respectivamente. Isso revela que a concentração de N do biofertilizante é muito baixa, haja vista que as plantas de feijoeiro são altamente exigentes em nitrogênio, sendo muito pouco provável esperar uma resposta significativa, com uma concentração tão baixa. Os resultados observados ($P > 0,05$), podem ser devidos a essa característica química do biofertilizante e da planta. Segundo Almeida et al. (2000), os melhores resultados observados com a aplicação foliar de uréia (fonte de N) em feijoeiro, foram com a concentração a 6%, mas a produção aumentou apenas 2,2% (45 kg ha^{-1}). Portanto, de acordo com os resultados encontrados na literatura, a respeito da adubação nitrogenada, seja via solo, de cobertura ou via foliar, são bastante controversos (Vieira, 1998).

Comparando os resultados do experimento de campo em relação a composição química dos biofertilizantes observamos que, tanto a concentração total quanto à concentração solúvel determinada pelo procedimento analítico (Tabela 3), mostram que a concentração de cálcio e de magnésio são maiores para o biofertilizante enriquecido que no biofertilizante comum. Apesar disso, as plantas não responderam a adubação foliar. De acordo com os dados da especiação química (GEOCHEM PC), observa-se que a composição total dos dois biofertilizantes (Tabela 7) apresentou alta porcentagem de cálcio e de magnésio complexada com sulfato, principalmente no biofertilizante enriquecido, apesar da maior concentração total e livre desses nutrientes. Essa complexação, possivelmente, os tornaria insolúveis, diminuindo a disponibilidade e a absorção pela planta (Parker et al., 1995). Essas informações nos parecem confiáveis principalmente pelo fato de os teores foliares desses nutrientes estarem próximos (Ca, Mg) ou até abaixo (S) da faixa de deficiência. Dados da literatura também confirmaram a baixa eficiência do biofertilizante Agrobio para Ca, Mg e S em experimento de campo com feijão (Duarte Júnior, 2002).

Poucos são os dados disponíveis na literatura sobre as alterações da nutrição da planta com a aplicação foliar de biofertilizante. Porém, Pereira & Mello (2002) observaram que a aplicação foliar (0,5% e 1%) de água de retortagem de xisto betuminoso (resíduo da mineração e industrialização do xisto betuminoso), resultou em aumento nos teores foliares de Mg e S de plantas de pimentão. Utilizando uma mistura de sais em solução, Castro & Boaretto (2004) testaram diversas combinações de nutrientes com o aminoácido metionina e a vitamina B1, em três aplicações foliares (30, 45 e 60 dias após a emergência) na cultura do feijoeiro, cultivado no período da seca e nas águas, mas não observaram alterações significativas dos teores de macronutrientes, confirmando com os resultados desse trabalho.

Não pode ainda ser descartada uma possível ação de substâncias orgânicas sobre as plantas, estimulando a absorção de determinados nutrientes (foliar ou radicular) em diferentes proporções e ativação de enzimas e rotas metabólicas (Façanha et al., 2002; Nardi et al., 2002), haja vista que a composição química e orgânica do biofertilizante é bastante complexa.

De maneira geral, nessas condições, a pulverização dos biofertilizantes entre 5% e 10%, pode ser uma alternativa para alcançar melhores resultados quanto aos teores foliares de macronutrientes (Figuras 2-A; 2-B; e 2- F). De acordo com Malavolta et al. (1997) os teores foliares de macronutrientes associados a altas produtividades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) devem estar na seguinte faixa: N = 30 a 50; P = 2 a 3; K = 20 a 25; Ca = 15 a 20; Mg = 4 a 7; S = 5 a 10 g kg⁻¹. Com esses dados, a relação entre o teor mínimo e máximo dos nutrientes considerada satisfatória, pode ser estabelecida em: N/Ca = 2,0 e 2,5; P/K = 0,10 a 0,12; K/Mg = 3,6 a 5,0; Ca/Mg = 2,9 a 3,8; K/(Ca+Mg) = 0,9 a 1,1; e N/S = 5,0 a 6,0.

Pelos resultados observados no experimento de campo (cv. Paina), considerando uma pulverização foliar a 10%, a relação entre eles, para as plantas pulverizadas com biofertilizante comum e com biofertilizante enriquecido, respectivamente, tem-se: N/Ca = 2,1 e 2,2; P/K = 0,11 e 0,11; K/Mg = 4,7 e 5,3; Ca/Mg = 3,5 e 3,8; K/(Ca+Mg) = 1,0 e 1,1; e N/S = 10,0 e 9,8.

Desta forma, o estado nutricional das plantas de feijão pode ser interpretado da seguinte forma: (1) para o biofertilizante comum: os teores adequados de P, K e Ca, com moderada deficiência em N e Mg, mas muito

deficiente em S; (2) para o biofertilizante enriquecido: os teores de P e K estão na faixa de suficiência, com deficiência moderada em N, Ca e Mg, mas muito deficiente em S. Essas conclusões estão de acordo com os dados anteriormente discutidos e confirmados pelos dados da análise química do biofertilizante (Tabela 3) e pelos dados fornecidos pelo programa GEOCHEM PC (Tabela 7).

A deficiência de Ca, Mg e S, possivelmente ocorreu devido ao uso de um produto que já caracterizava baixa concentração e disponibilidade, tornando ainda maior a diferença do Ca, Mg e S, em relação aos demais nutrientes. A aplicação de biofertilizante comum a 20% aumentou significativamente ($P < 0,05$) os teores foliares de K, aumentando ainda mais a diferença entre K, Ca, Mg [$(K/(Ca+Mg) = 25,7/(18,17+4,5) = 1,1)$] e S ($N/S = 39,9/3,9 = 10,0$). De acordo com Mpabansi (1998), a combinação de uma adubação no estágio de florescimento (suprimento adequado de Mg) e aplicação foliar de micronutrientes durante o enchimento de vagem, pode resultar na diminuição da abscisão de vagens e com isso, aumentar o rendimento do feijoeiro. Por outro lado, uma diminuição drástica do suprimento de magnésio ou de micronutrientes durante a fase reprodutiva resulta em redução do rendimento de vagens de 60 a 80%.

De acordo com os resultados acima, a aplicação foliar de biofertilizante comum ou enriquecido não melhorou significativamente o estado nutricional das plantas. Isso significa que este produto não apresenta boas indicações como fertilizante foliar para aumentar os teores de macronutrientes em feijoeiro. Porém deve-se considerar que a taxa de absorção foliar de macronutrientes pelas plantas, de uma maneira geral, é muito baixa e que esses nutrientes são exigidos em grandes quantidades.

De acordo com a proposta deste trabalho era investigar a qualidade do biofertilizante como fertiprotetor para o cultivo de feijoeiro por pequenos produtores rurais (agricultura familiar), onde apresentam dificuldades para aquisição de fertilizantes minerais e manter a fertilidade do solo. Nessas condições, a aplicação foliar dos biofertilizantes pode apresentar melhores perspectivas para melhorar os teores foliares de macronutrientes, mas ainda é preciso mais pesquisas considerando essas características de baixa fertilidade do solo e o mínimo de adubação mineral no plantio e cobertura, para que assim, seja de fato, observado o verdadeiro potencial dos biofertilizantes para a agricultura familiar.

3.2 Efeitos sobre o teor foliar de micronutrientes

3.2.1 Experimento de casa-de-vegetação (cv. BRS Valente)

A aplicação foliar das formulações de biofertilizantes e das soluções nutrientes apresentou diferenças significativas ($P < 0,05$) entre si e em relação ao controle (contraste x demais tratamentos), para a maioria dos micronutrientes, independente da concentração.

Pelo contraste C_1 (Controle vs demais) pode-se observar que a aplicação foliar de biofertilizantes e de soluções nutrientes a 5% aumentou significativamente os teores de zinco, de cobre e, reduziu o teor de sódio ($P < 0,01$), e com a aplicação a 20%, aumentou significativamente os teores de zinco, de cobre, de ferro, de boro ($P < 0,01$) e de manganês ($P < 0,05$). Os teores foliares de ferro e de manganês não foram influenciados pela aplicação a 5%, e do sódio, pela aplicação a 20% (Tabela 14).

O contraste entre os biofertilizantes e as soluções nutrientes ($C_2: T_1 T_2 T_3 \times T_4 T_5 T_6$) mostra o efeito da fração orgânica ou mineral sobre os teores de micronutrientes. Assim, diferenças significativas ($P < 0,01$) foram observadas dos teores foliares de Zn, Mn, Cu, Fe e B (Tabela 14). O efeito dos tratamentos foi variável em função da concentração da calda 5% ou 20%. Com a aplicação a 5%, os teores de Zn, Mn e Cu foram significativamente ($P < 0,01$) maiores com a aplicação das soluções, no entanto resultaram em menores teores de Fe e de B. Por outro lado, aumentando a concentração da calda para 20%, os teores de Mn e B foram significativamente ($P < 0,01$) maiores com aplicação das soluções, semelhante ao observado também para os teores de Zn e de B, nas duas concentrações (5% e 20%).

As formulações de biofertilizantes apresentaram menores teores de Zn e maiores teores de B, em relação às soluções nutrientes (Tabelas 14 e 15), no entanto, comparando com o controle (água pura), os teores de Zn foram significativamente superiores ($P < 0,05$), independentemente da formulação (biofertilizantes ou soluções nutrientes) e da concentração, e os teores de B, foram também significativamente superiores ($P < 0,05$), independentemente da formulação, mas somente para concentração 20% (Tabela 15).

Tabela 14 - Quadrado médio (QM) da análise de variância geral (ANOVA) e contrastes ortogonais estimados (\hat{C}_i) desdobramento dos seis graus de liberdade dos tratamentos das fontes de variação dos teores foliares de micronutrientes (mg kg^{-1}) em feijoeiro comum (cv. BRS Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de seis formulações e soluções a concentração de 5 e 20%. UENF, abril a junho de 2004.

F. Variação	GL	Zn ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Fe ⁺⁺	B	Na ⁺
----- Pulverização a 5% -----							
Bloco	3	28,9881	340,4762	0,3429	213,7500	63,7143	80,6190
Formulação	5	9303,04^{**}	7252,04^{**}	35,38^{**}	1762,27^{**}	60,14^{**}	209,57[*]
Tratamentos (7)	6	11013,42^{**}	6054,73^{**}	31,71^{**}	1481,91^{**}	57,29^{**}	434,70^{**}
Trat.* Adicional	1	19565,29^{**}	68,15^{ns}	13,37^{**}	80,10[*]	43,01^{ns}	1560,38^{**}
<i>C₁: Contr. vs demais</i>	1	-453,25 ^{**}	-26,75	-11,85	-29,00 ^{5,8%}	21,25 ^{5,6%}	128,0
<i>C₂: T₁T₂T₃ vs T₄T₅T₆</i>	1	-174,75 ^{**}	-124,75 ^{**}	-7,75 ^{**}	28,00 ^{**}	13,25 ^{**}	5,00
<i>C₃: T₁ vs T₂T₃</i>	1	-154,25 ^{**}	5,50	-2,65 ^{**}	34,50 ^{**}	-8,75 [*]	-15,00
<i>C₄: T₂ vs T₃</i>	1	-27,75 ^{**}	-94,50 ^{**}	-1,30 ^{**}	-43,00 ^{**}	-3,25	15,00 [*]
<i>C₅: T₄ vs T₅T₆</i>	1	73,00 ^{**}	66,00 ^{**}	13,15 ^{**}	-23,00 ^{**}	-4,50	-10,00
<i>C₆: T₅ vs T₆</i>	1	51,00 ^{**}	50,50 ^{**}	2,60 ^{**}	41,50 ^{**}	7,00 ^{**}	13,50 [*]
Resíduo	18	14,2103	99,1706	0,4079	19,6667	10,3810	69,9246
Média geral	-	129,25	334,57	7,14	126,39	59,71	97,21
CV(%)	-	2,92%	2,98%	8,94%	3,51%	5,40%	8,60%
----- Pulverização a 20% -----							
Bloco	3	160,6667	124,4762	2,3032	83,6667	39,3690	140,8929
Formulação	5	74187,47^{**}	1206,94^{**}	149,08^{**}	1495,44^{**}	4161,37^{**}	2213,14^{**}
Tratamentos (7)	6	99589,66^{**}	1101,74^{**}	152,27^{**}	1473,82^{**}	3602,16^{**}	1856,95^{**}
Trat.* Adicional	1	226600,60^{**}	575,72[*]	168,20^{**}	1365,72^{**}	806,10^{**}	76,01^{ns}
<i>C₁: Contr. vs demais</i>	1	-1542,50	-77,75	-42,025	-119,75	-92,00	-28,25
<i>C₂: T₁T₂T₃ vs T₄T₅T₆</i>	1	-332,50 ^{**}	26,25 ^{6%}	-3,425 ^{**}	-10,25	140,00 ^{**}	63,25 ^{**}
<i>C₃: T₁ vs T₂T₃</i>	1	-646,25 ^{**}	-74,50 ^{**}	-18,175 ^{**}	-24,00 ^{**}	-102,50 ^{**}	88,50 ^{**}
<i>C₄: T₂ vs T₃</i>	1	-18,75 ^{**}	11,50	-0,575	-5,50	-17,50 ^{**}	-29,00 ^{**}
<i>C₅: T₄ vs T₅T₆</i>	1	-159,00 ^{**}	-46,00 ^{**}	24,825 ^{**}	-89,00 ^{**}	-12,75 ^{**}	-13,25 ^{**}
<i>C₆: T₅ vs T₆</i>	1	25,00 ^{**}	10,00	7,275 ^{**}	29,00 ^{**}	2,75	26,25 ^{**}
Resíduo	18	64,4167	114,0873	0,7563	75,3611	22,9802	101,2540
Média geral	-	284,86	341,86	11,45	139,36	75,89	119,54
CV(%)	-	2,82%	3,12%	7,59%	6,23%	6,32%	8,42%

^(ns) Não significativo; ^(*) significativo a 5% de probabilidade; e ^(**) significativo a 1% de probabilidade.

Esses resultados de perda de eficiência (do zinco) dos biofertilizantes já foram observados anteriormente para os macronutrientes, onde grande parte dos nutrientes P, Ca, Mg e S, estavam complexados ou entre si ou com a matéria orgânica. No caso do Zn, como foi comentado 22,7% e 29,3% (soluções a 5% ou 20%, respectivamente) da quantidade total pode estar complexado com grupamentos fosfatos adicionados ao biofertilizante durante o seu preparo. Na concentração de 20%, a disponibilidade do zinco na forma iônica (Zn⁺⁺) é de 57,7% do total.

Tabela 15 - Médias dos tratamentos dos teores foliares de micronutrientes (mg kg⁻¹) em feijoeiro comum (cv. BRS Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de seis formulações e soluções a concentração de 5 e 20%. UENF, abril a junho de 2004.

Tratamentos	Zn ⁺⁺	Mn ⁺⁺	Cu ⁺⁺	Fe ⁺⁺	B	Na ⁺
----- Pulverização a concentração de 5% -----						
Controle	64,5	330,8	5,45	122,3	62,8	115,5
T ₁	59,5	316,3	5,25	143,3	58,5	90,0
T ₂	122,8	266,3	5,93	104,5	61,3	105,0
T ₃	150,5	360,8	7,23	147,5	64,5	90,0
T ₄	193,5	378,0	13,10	114,8	55,5	90,0
T ₅	182,5	370,3	7,83	147,0	61,3	101,8
T ₆	131,5	319,8	5,23	105,5	54,3	88,3
Média	129,3	334,6	7,14	126,4	59,7	97,2
d.m.s. (Tukey; 5%)	8,8	23,3	1,49	10,4	7,5	19,5
----- Pulverização a concentração de 20% -----						
Controle	64,5	330,8	5,45	122,3	62,8	115,5
T ₁	50,8	323,3	5,83	132,5	67,3	160,3
T ₂	364,5	366,3	14,63	141,8	109,8	101,5
T ₃	383,3	354,8	15,20	147,3	127,3	130,5
T ₄	324,0	324,0	21,30	114,3	50,5	105,3
T ₅	416,0	352,0	12,53	173,3	58,3	125,0
T ₆	391,0	342,0	5,25	144,3	55,5	98,8
Média	284,9	341,9	11,45	139,4	75,9	119,5
d.m.s. (Tukey; 5%)	18,7	24,9	2,03	20,3	11,2	23,5

Por outro lado, não parece que o Zn esteja muito envolvido em interações com a matéria orgânica do biofertilizante. De acordo com dados da Tabela 2 (teores totais e solúveis), pode-se se ter uma idéia da proporção da sua interação com a matéria orgânica do biofertilizante (231,8 mg dm⁻³/ 2.522,8 mg dm⁻³ de Zn). Os dois procedimentos de análise (analítico e especiação), indicaram que parte do zinco está indisponível, no entanto, devido à quantidade adicionada ser alta, a concentração livre também foi alta, confirmado pelos altos teores nas folhas (Tabela 15).

Há diferença entre a análise química do biofertilizante, que foi realizada com o produto puro (100%), enquanto a análise da especiação química feita com auxílio do programa GEOCHEM PC, a concentração usada foi à diluída (5% ou 20%). Ainda, na especiação da solução a matéria orgânica do biofertilizante não é levada em consideração (Parker et al., 1995), sendo, portanto, importante utilizar os dados da especiação complementando os dados da análise química e esses, aos resultados observados no experimento com plantas. Por outro lado, a diferença entre os teores totais e os teores solúveis, não revela, necessariamente,

a fração da espécie adsorvida, porque as espécies químicas complexadas na forma de precipitados (p.ex. fosfato de zinco) podem estar retidas juntamente com a matéria orgânica, o que nos dá uma falsa impressão do resultado. O ideal seria analisar as duas frações: o sobrenadante e a retida no tubo de centrifugação.

A diferença observada na proporção da concentração solúvel do Zn entre os dois biofertilizantes pode estar relacionada com a saturação dos sítios de cargas negativas da matéria orgânica, onde a alta concentração de Zn do biofertilizante enriquecido, facilmente pode saturar esses sítios, enquanto no biofertilizante comum (como a concentração total de Zn é muito baixa), alta proporção pode estar adsorvida aos sítios de cargas negativas da matéria orgânica (mais de 93%), consumindo praticamente toda a fração na forma iônica (Zn^{++}), deixando disponível menos de 7% do total ($1,05 \text{ mg dm}^{-3}/16,0 \text{ mg dm}^{-3}$), que já era muito baixa, comparado com o biofertilizante enriquecido ($2.291,0 \text{ mg dm}^{-3}/2.522,8 \text{ mg dm}^{-3}$)(Tabela 4).

Por outro lado, o cobre parece estar mais ligado fortemente aos agentes orgânicos (matéria orgânica) comparado com o zinco que pode estar mais complexado com agentes inorgânicos (mineral). Esses processos de complexação do zinco e do cobre diminuiram a sua concentração na forma iônica (livre) (Tabela 4 e 7), tornando os biofertilizantes poucos eficientes se comparados às soluções nutrientes. Dessa forma, pode-se verificar que os dados do experimento comprovam esta evidência, dada pelo contraste negativo entre os biofertilizantes e soluções nutrientes (Tabelas 14). Houve maior teor de zinco e de cobre com a aplicação das soluções, independente da concentração (Tabela 15). Alvarez-Puebla et al. (2004) observaram que as substâncias húmicas têm uma grande influência no processo de precipitação do Cu^{++} , dando origem a precipitados amorfos. De certa forma, os resultados observados confirmam a reação do Cu com a matéria orgânica. No entanto, quando os pesquisadores testaram o efeito do Cu na presença dos ligantes Cl^- e NO_3^- , separadamente, observaram efeitos de competição destes com as cargas das substâncias húmicas; a presença de Cl^- resultou na formação de $[CuCl_4]^{-2}$ que é estável em solução devido a sua carga negativa; mas, quando o NO_3^- estava presente, houve a formação de $[CuNO_3]^+$, adsorvido, conseqüentemente, nas cargas negativas da substâncias húmicas. Na especiação química das soluções testadas, não foi observada interação significativa do Cu, com Cl^- e NO_3^- (menos

de 1%), possivelmente devido à competição pelos outros ligantes e metais presentes.

Os altos teores foliares de Zn observados em feijoeiro também podem ser explicados pela interação entre Cu e Zn no processo de absorção cuticular e absorção foliar, já que os dois nutrientes foram misturados na mesma formulação da solução. Entretanto, Rosolem (2002) comenta que a absorção do Cu pode prejudicar absorção de zinco, discordando com os resultados observados nesse trabalho. Anteriormente (Tabela 4) observou-se uma forte interação entre o Cu e a matéria orgânica estando de acordo com Rosolem (2002), que a matriz cuticular apresenta maior seletividade pelo Cu do que pelo zinco ($Cu > Zn > Mn$). Apesar disso, a absorção de zinco e de cobre pelas plantas de feijão foram altas, possivelmente devido à alta concentração de zinco presente no biofertilizante.

O boro também apresentou alta associação com a matéria orgânica do biofertilizante (Tabela 4), mas não parece que foi o suficiente para impedir a sua absorção pelas plantas, já que a aplicação de biofertilizantes teve contribuição na elevação dos seus teores no tecido foliar, comparado com as soluções (Tabela 14 e 15).

Ainda analisando o contraste biofertilizantes versus solução de nutrientes, observa-se que quando a concentração da calda é aumentada de 5% para 20%, os biofertilizantes contribuem em média com 8% a mais para o aumento dos teores foliares dos nutrientes, que às soluções minerais (Tabela 15). Essa diferença possivelmente ocorreu porque maior quantidade de matéria orgânica foi depositada sobre a superfície foliar, o que certamente contribuiu para a manutenção da umidade sobre a superfície foliar, pois pouco tempo depois da pulverização ocorre evaporação da água da lâmina foliar e um resíduo salino (ou salino-orgânico) hidratado é formado sobre a cutícula da folha (Schonherr, 2000). Portanto, possivelmente o resíduo salino-orgânico (do biofertilizante) é mais duradouro e mais eficiente na manutenção da umidade que o resíduo salino (das soluções nutrientes), conseqüentemente a absorção é aumentada. Segundo Schonherr (2000) e Eichert & Burkhardt (2001), a reidratação da cutícula ou mesmo a manutenção da umidade por mais tempo (alta umidade relativa do ar), permite a penetração de íons através da cutícula e os nutrientes continuam sendo absorvidos a partir deste resíduo deixado na superfície foliar.

No terceiro contraste (T_1) x (T_2 T_3), observa-se efeitos da adição de minerais no biofertilizante. A aplicação foliar dos biofertilizantes enriquecidos com minerais (T_2 T_3) resultaram em aumento significativo ($P < 0,01$) dos teores foliares de Zn, Cu e B, independente da concentração usada e de Mn e Fe, para a concentração de 20% (Tabela 14). Nesse contraste constata-se a contribuição da adição de minerais durante o preparo do biofertilizante enriquecido. Essa resposta positiva do biofertilizante sobre os teores foliares de micronutrientes parece ser importante quando avaliada isoladamente, no entanto, isso pode resultar em plantas com altos níveis de micronutrientes, quando analisado conjuntamente, com os demais nutrientes (macronutrientes). Pois, o equilíbrio nutricional da planta pode ficar alterado, e, não necessariamente, resultar em aumento de produtividade, que por vezes, até mesmo, pode atingir níveis tão elevados, que pode causar fitotoxicidade na planta e, conseqüentemente, diminuição do rendimento. De acordo com Malavolta et al. (1997) os teores foliares de micronutrientes (mg kg^{-1}) encontrados nesse ensaio, estão acima do limite máximo (Tabela 9), principalmente os teores Zn, Cu e B, quando as plantas foram pulverizadas com biofertilizante enriquecido a 20%. Por outro lado, os teores de Mn, Cu, Fe e B, não foram influenciados pela aplicação de biofertilizante comum, independente da concentração, comparada em relação ao controle (Tabela 15). Os altos teores de micronutrientes em relação aos macronutrientes podem estar associados à baixa adubação no solo (vaso) e a alta concentração de biofertilizante enriquecido, que contribuíram para maior desequilíbrio nutricional das plantas de feijoeiro em casa-de-vegetação. Estes dados estão de acordo com Tanaka (2001), que testou a aplicação de quatro concentrações de biofertilizante enriquecido (4%, 8%, 12% e 16%) na cultura do tomateiro e observou que concentrações maiores que 4%, foram suficientes para que as plantas apresentassem sintomas de fitotoxicidade.

Analisando o quarto contraste (T_2 x T_3)(Tabela 14), verifica-se o efeito da esterilização sobre os teores foliares de micronutrientes. A esterilização do biofertilizante enriquecido contribuiu significativamente ($P < 0,01$) para a elevação dos teores de micronutrientes nas folhas de feijoeiro (exceto B e Na, a 5% e Mn, Cu e Fe a 20%), independente da concentração usada. Esse efeito foi semelhante ao observado para os macronutrientes, onde de maneira geral, os teores foliares também foram maiores com aplicação do biofertilizante esterilizado.

No quinto e no sexto contrastes observam-se os efeitos da adição/determinação de nutrientes e os efeitos da fração total/solúvel dos nutrientes do biofertilizante. Assim, os teores dos micronutrientes (exceto Mn e B, a 20%) apresentaram maiores valores com a aplicação do tratamento T₅, comparado com o T₆, independente da concentração (Tabela 14). Isso indica que a fração dos nutrientes do biofertilizante enriquecido que se torna indisponível (complexada e/ou adsorvida) pode contribuir significativamente ($P < 0,01$) para elevar os níveis de nutrientes na planta, confirmando a fração dos macronutrientes (exceto N) observada anteriormente (Tabela 12). Entretanto, em média, esses dois tratamentos (T₅ e T₆) não foram significativamente superiores ($P < 0,01$) ao tratamento T₄, para os teores de Zn, Mn e Cu com aplicação a 5% e, de Cu, com aplicação a 20%; mas foi significativamente ($P < 0,01$) superior para os teores de Zn, Mn e B, com aplicação a 20% e para os teores de Fe, independente da concentração (Tabela 14).

Esses resultados estão de acordo com aqueles observados anteriormente para os macronutrientes (Tabela 12). Portanto, é importante ressaltar que este contraste tem como hipótese teórica, que a média dos tratamentos T₅ e T₆, nunca deveriam expressar teores de nutrientes inferiores ao tratamento T₄ ($H_0: \mu_{T_4} - \mu_{T_5} - \mu_{T_6} \geq 0$; $H_1: \mu_{T_4} - \mu_{T_5} - \mu_{T_6} < 0$), pois quando isso acontecer é porque ou a planta não está respondendo a aplicação do nutriente ou esse nutriente pode estar já previamente complexado e/ou adsorvido. Por exemplo, o contraste para o teor foliar de Cu, nas duas concentrações ($C_5 = T_4 \times T_5 \times T_6$; 13,15 e 24,82), apresentou-se positivo, o que indica diversas possibilidades de interações do nutriente com agentes da solução, possivelmente formando complexos estáveis com sulfatos (cerca de 15% do total), diminuindo a sua concentração na forma iônica (Tabela 7), confirmando as informações a respeito da interação do cobre com sulfato ou deste com a matéria orgânica.

A semelhança do que ocorreu com o cobre, também foi observado para o Zn e o Mn, mas somente em baixa concentração (5%). No entanto, aumentando a concentração da solução para 20%, ocorreu o inverso, os teores foliares de Zn e Mn das plantas pulverizadas com os dois tratamentos (T₅ e T₆) foram em média, superiores ao tratamento T₄. Isso possivelmente é devido a concentração livre (Zn^{++} e Mn^{++}) desses nutrientes na solução no tratamento T₄, em relação à média do T₅ e T₆, no entanto, a resposta foi inferior. Uma possível interação do cálcio

inibindo competitivamente a absorção de zinco e inibição não competitiva do ácido bórico sobre o zinco (Malavolta et al., 1997), já que na concentração da solução a 20%, a disponibilidade (livre) de cálcio e de boro era significativamente superior no tratamento T₄, comparado ao tratamento T₅ e T₆ (Tabela 13). No entanto, apesar da maior concentração livre de boro no T₄, os teores do mesmo nas plantas pulverizadas com este tratamento, não foi superior ($P < 0,05$) à média dos tratamentos T₅ e T₆ (Tabela 14).

Naseri et al. (2002) avaliaram os efeitos da aplicação foliar de micronutrientes (boro, cobre e manganês), isolados ou em combinação, no crescimento de plantas de macieira. Foi observado aumento significativo no teor foliar de B, Cu e Mn com a aplicação foliar separadamente de ácido bórico (1000 mg L⁻¹), sulfato de cobre (500 mg L⁻¹) e sulfato de manganês (1000 mg L⁻¹), respectivamente. No entanto, a aplicação desses micronutrientes misturados, resultou em efeitos de sinergismo e antagonismo entre a absorção de B, Cu e Mn. As plantas mantiveram altos teores de Cu, mas não de B e Mn, durante o período de crescimento, sendo necessário repetir várias vezes a aplicação foliar de B e Mn para o suprimento adequado para a planta.

É sabido que interações físico-químicas ocorrem, principalmente em se tratando de soluções multinutrientes e de biofertilizantes. Porém, agora cabe tomarmos a decisão de orientar os novos trabalhos que sejam conduzidos de forma semelhante. Uma observação importante, sem desprezar os comentários sobre os macronutrientes realizados anteriormente, com respeito aos micronutrientes, principalmente o zinco. De acordo com preparo do biofertilizante Supermagro, a quantidade de sulfato de zinco recomendada é muito alta (Tabela 5; Magro, 1994), podendo ser comparado até com a quantidade de um macronutriente. A alta concentração de zinco no biofertilizante enriquecido pode interagir-se com outros nutrientes na solução e diminuir as suas disponibilidades na forma iônica, assim como competir pela absorção na planta. Pesquisas nesse sentido ainda não foram realizadas com biofertilizantes, portanto, de acordo com os resultados observados nesse trabalho, mais investigações científicas são necessárias para se averiguar qual dose de zinco deve ser adicionada no preparo do biofertilizante, assim como para os demais micronutrientes. Nossos resultados indicam que a quantidade de zinco e de cálcio adicionada foi muita alta, em relação aos demais minerais.

3.2.2 Experimento de campo (cv. Paina)

A análise de variância (ANOVA), revelou que houve interação significativa ($P < 0,05$) biofertilizante x concentração, com significativa contribuição do biofertilizante enriquecido na elevação dos teores zinco, cobre, boro e ferro ($P < 0,05$) (Figuras 3-B, 3-D, 3-E e 3-F).

Analisando conjuntamente dois grupos de micronutrientes, primeiro (Zn, Cu e B) e segundo (Cl, Mn e Fe), pode-se notar que o aumento da concentração do biofertilizante enriquecido (BIO CM) aumentou linearmente ($P < 0,05$) os teores foliares do primeiro grupo, enquanto que no segundo grupo houve efeito quadrático ($P > 0,05$), mas apenas significativo para o teor de ferro ($P < 0,05$). Por outro lado, o a aplicação de biofertilizante comum (BIO SM) não influenciou significativamente ($P > 0,05$) os teores foliares de micronutriente, exceto para o teor de cobre, que reduziu com aumento da concentração do biofertilizante (Figura 3).

Estes dados do experimento de campo estão de acordo com os observados no experimento de casa-de-vegetação (cv. BRS Valente), em que ocorreu significativo ($P < 0,05$) aumento dos teores de Zn, Mn, Cu e B com aplicação do biofertilizante enriquecido, em relação ao biofertilizante comum e ao controle (independente da concentração) (Tabela 15).

A eficiência na absorção foliar de zinco foi comprovada pela alta concentração no tecido foliar, apesar da mistura com outros nutrientes e matéria orgânica. Isso indica que a sua absorção não foi comprometida na presença de outros macros e micronutrientes. Estes resultados estão de acordo com Duarte Júnior (2002), que observou aumento linear dos teores de Zn, quadrático para os teores de Mn, mas não obteve resposta para os teores de Cu e Fe, com aplicação de Agrobio® em duas cultivares de feijoeiro cultivados no campo e em casa-de-vegetação.

Ambrosano et al. (1996) estudaram a combinação de diversas formas de adubação NPK e micronutrientes, no solo e via foliar no feijoeiro, por diversos anos e observaram que a adubação foliar contendo NPK mais boro, zinco e molibdênio, aumentou significativamente os teores foliares de N, K, Zn e B.

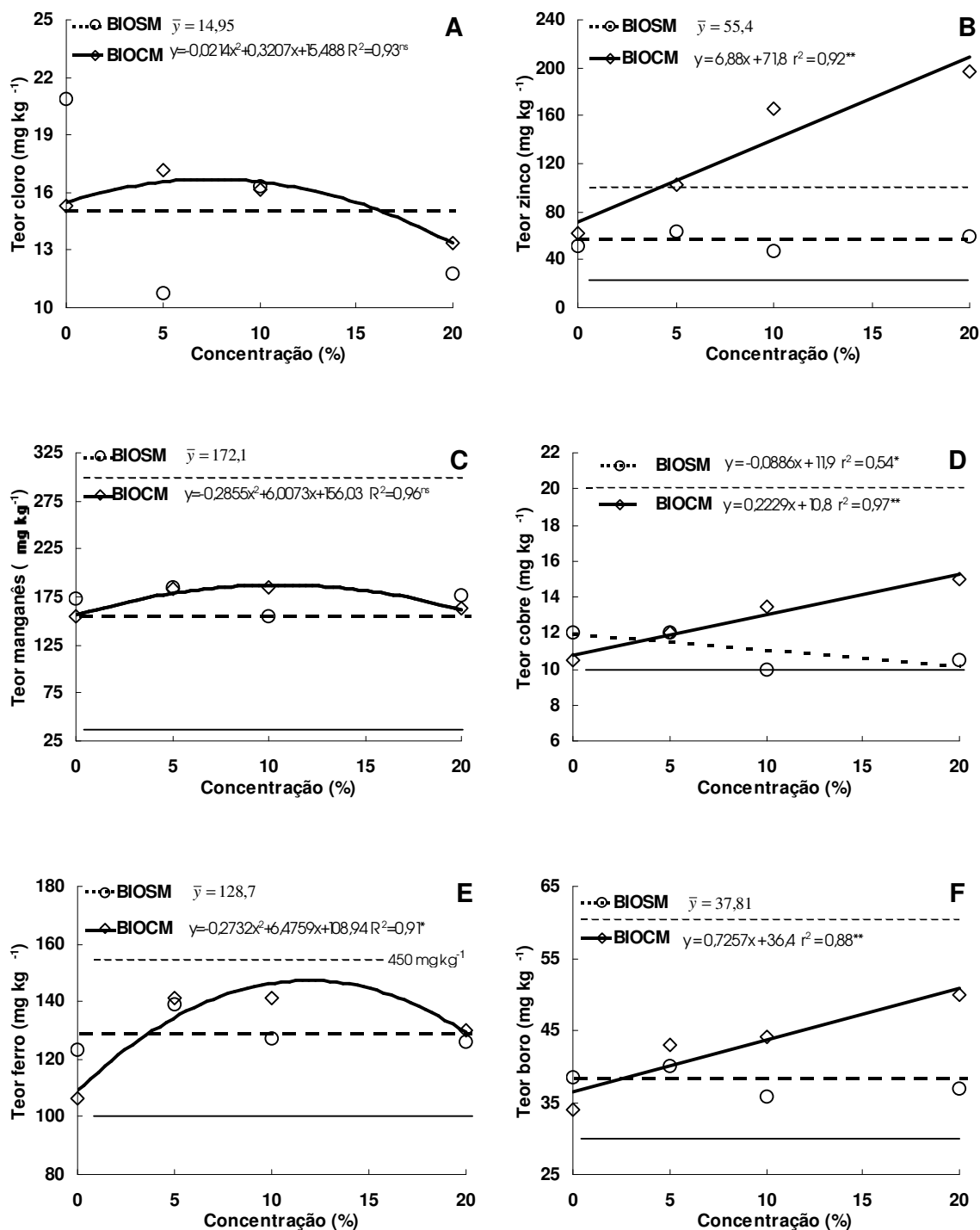


Figura 03 - Teores foliares de micronutrientes (g kg^{-1}) em feijoeiro comum (cv. Paina) aos 35 d.a.e (início do florescimento – R6) do experimento de campo, em função da pulverização de quatro concentrações (0%; 5%; 10%; e 20%) de biofertilizantes (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido). As barras no gráfico referem-se ao teor do nutriente considerado nível crítico e limite de luxo (Malavolta, 1997). Significância teste F: $P > 0,05$ (ns), $P < 0,05$ (*) e $P < 0,01$ (**). UENF, setembro a dezembro de 2004.

Segundo Malavolta et al. (1997), plantas submetidas a adubação com Cu, B e Zn, podem comprometer a absorção de zinco, no entanto, isso não aconteceu com a aplicação de biofertilizante enriquecido com esses micronutrientes. De acordo com estes autores, a absorção do zinco seria inibida pela presença do cobre. Entretanto, essas informações foram investigadas em experimentos de solução nutritiva, onde a absorção foi via radicular.

Considerando a concentração de biofertilizante a 10%, os teores de micronutrientes, em mg kg^{-1} , apresentados pelas plantas pulverizadas com biofertilizante comum e enriquecido são: Zn = 55,4 e 140; Mn = 172 e 190; Cu = 10,8 e 13,0; Fe = 129 e 148; e B = 37,8 e 45 (mg kg^{-1}); A relação: B/Mn = 0,22 e 0,24; Ca/Mn = 106 e 93; respectivamente. Portanto, Malavolta et al. (1997) estabeleceu faixas mais adequadas desses micronutrientes, para se atingir bons índices de produtividade: Zn = 20 a 100; Mn = 30 a 300; Cu = 10 a 20; Fe = 100 a 450; e B = 30 a 60; A relação: B/Mn = 1,00 a 0,20; Ca/Mn = 500 a 67.

Portanto, de acordo com dados dos teores foliares das plantas pulverizadas com biofertilizantes pode-se inferir que: a aplicação de biofertilizante comum a 10% não aumentou os teores adequadamente de Zn, Mn, Cu, Fe e B, permanecendo próximo do nível crítico.

Por outro lado, a pulverização com o biofertilizante enriquecido a 10%, aumentou os teores dos micronutrientes Zn, Mn, Cu, Fe e B, principalmente o teor de zinco (níveis tóxicos). Apesar desse desequilíbrio nutricional do Ca, Mg, S e Zn, estas plantas apresentam estado nutricional superior às pulverizadas com biofertilizante comum a 10%. Contudo, a deficiência desses nutrientes pode, de certa forma, limitar a produção, pois esses nutrientes são os principais envolvidos na formação da parede celular dos tecidos, na fotossíntese e síntese de proteínas (Taiz & Zeiger, 2004).

3.3 Efeitos sobre os caracteres fitotécnicos (casa-de-vegetação e campo)

Não houve efeito significativo da aplicação de biofertilizantes líquidos e soluções nutrientes sobre a produção (cv. BRS Valente) no experimento conduzido em casa-vegetação, independentemente da concentração (5% ou 20%) (Tabela 12). Os altos teores de micronutrientes associados, concomitantemente, aos baixos teores foliares de macronutrientes (Tabelas 13 e

15) observados nas plantas em condições de casa-de-vegetação, possivelmente sejam as principais razões para o baixo desempenho da produção. Uma outra causa possível para esse fato pode ser o alto valor do coeficiente de variação observado para a variável produção (43,1% e 44,5% para as concentrações de 5% e 20%, respectivamente).

Entretanto, aumentos significativos de produtividade foram obtidos em condições de campo com a cultivar Paina. Os resultados da avaliação dos caracteres fitotécnicos e a produção do feijoeiro, em função da aplicação foliar de duas formulações de biofertilizantes anaeróbico e quatro concentrações, são apresentados na Figura 4.

A análise de variância (ANOVA), revelou interação significativa ($P < 0,01$) biofertilizante x concentração, para a produtividade (kg ha^{-1}), número de grãos por vagem e índice de área foliar (IAF). A aplicação de biofertilizante enriquecido (BIO CM) aumentou significativamente a produtividade ($P < 0,01$), o número de grãos por vagem ($P < 0,05$) e reduziu o índice de área foliar do feijoeiro ($P < 0,05$) (Figura 4-A, 4-B e 4-F). O incremento na produtividade foi de 16% (270 kg ha^{-1}) com a aplicação a 10%. O número de grãos por planta, o número de vagens por planta e o peso de 100 grãos (g) não foram influenciados significativamente ($P > 0,05$) pela aplicação do biofertilizante enriquecido. Entretanto, com a aplicação de biofertilizante comum (BIO SM) a 20% houve redução de 17,5% ($P < 0,01$) na produtividade (272 kg ha^{-1}) e de 14,7% ($P < 0,01$) no número de vagens por planta (12,6 para 10,8 vagens/planta), mas aumentou significativamente ($P < 0,01$) o índice da área foliar (Figura 4-A, 4-D e 4-F). O número de grãos por planta, o peso de 100 grãos (g), não foram influenciados significativamente ($P > 0,05$).

A produtividade do feijoeiro com a aplicação do biofertilizante enriquecido se relacionou positivamente com o aumento do número de grãos por vagem. Entretanto, o efeito negativo da aplicação do biofertilizante comum, sobre a produtividade, pode estar relacionado com a diminuição significativa do número de vagens por planta. Uma explicação para esse efeito do biofertilizante comum, possivelmente esteja relacionado com a queda de flores e/ou de vagens da planta (abortamento). Segundo Nardi et al. (2002), existem diversas substâncias orgânicas que agem na planta, como promotores de crescimento, como exemplo, as auxinas, as citocininas, produzidas por microrganismos benéficos, possivelmente encontrados em biofertilizantes (Bettiol et al., 1998).

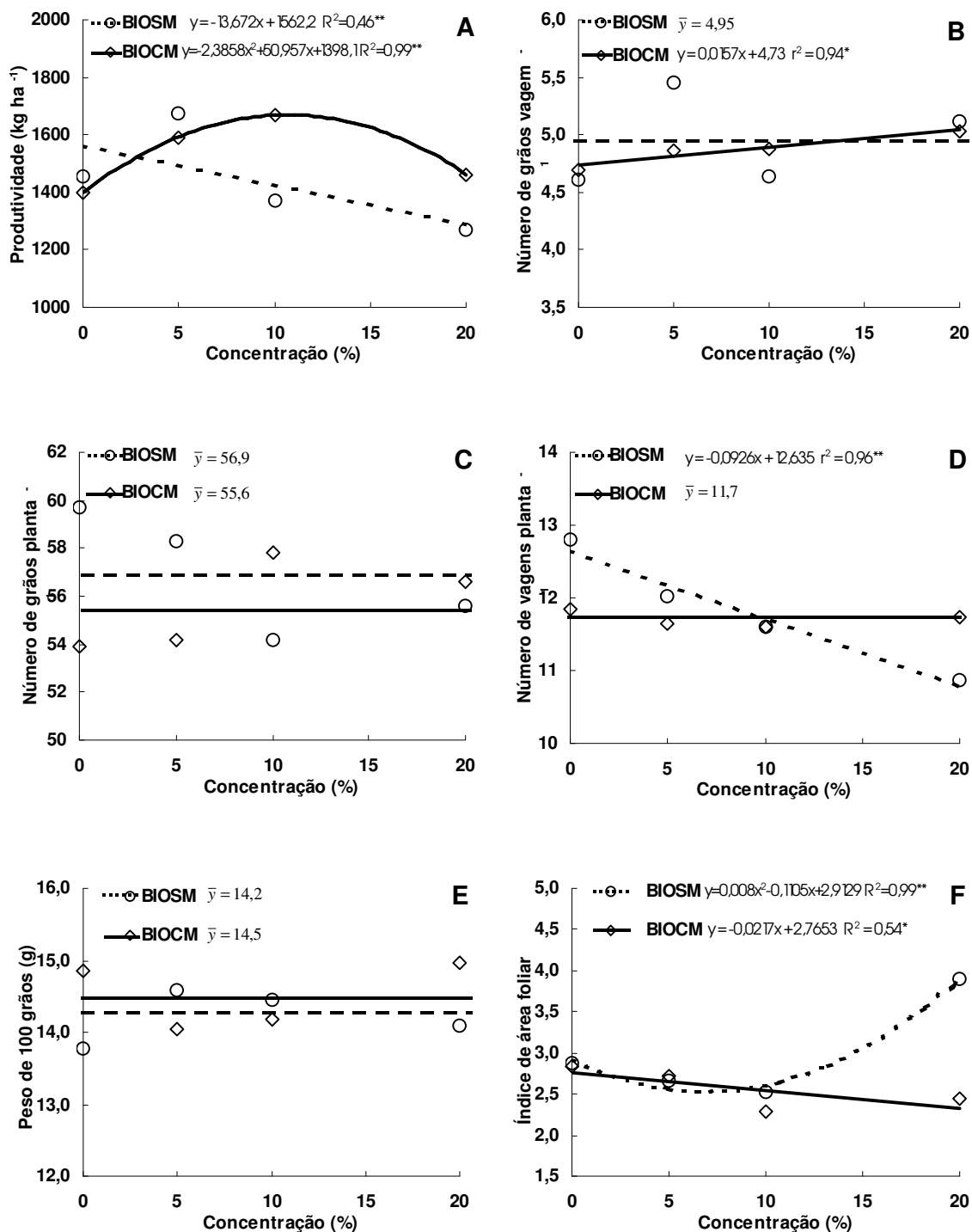


Figura 04 -

Produtividade e componentes de produção do feijoeiro comum (cv. Paina) do experimento de campo, em função da pulverização de quatro concentrações (0%; 5%; 10%; e 20%) de biofertilizantes (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido). Significância teste F: $P > 0,05$ (ns), $P < 0,05$ (*) e $P < 0,01$ (**). UENF, setembro a dezembro de 2004.

Estes resultados de redução do número de vagens por planta também foram observados por Duarte Júnior (2002), que estudou a aplicação de biofertilizante em feijoeiro: a aplicação de Agrobio® ora aumentava ora diminuía o número de vagens por planta (ajuste cúbico), em função da concentração do biofertilizante. As flores de feijoeiro são extremamente sensíveis a danos mecânicos e ao efeito abortivo de produtos químicos de natureza diversa (alguns fertilizantes e defensivos) principalmente aqueles a base de K, S, N, Cu, Sn (Francelli & Dourado Neto, 1997). Nas condições de campo, a causa principal do abortamento de flores do feijoeiro é a alta temperatura. No entanto, deficiência hídrica, principalmente na fase R7, pode causar queda de vagens (abortamento) e redução da produtividade (Francelli & Dourado Neto, 1997).

Duarte Júnior (2002) não observou aumento significativo com a aplicação de Agrobio® sobre a produção do feijoeiro (cv. Perola e Ouro Negro). Em plantas de pimentão, aplicações foliares semanais com os biofertilizantes Supermagro (2; 4; 6; 8 e 10%) e biofertilizante bovino (10; 20; 30; 40 e 50%) não aumentaram a produção total de frutos em relação à testemunha (Souza, 2000).

Csizinszky (1984), estudando a aplicação de fertilizante orgânico via foliar nessa cultura, verificou que as pulverizações com 2,5 L ha⁻¹ de MZ63 (41,7 N; 30 Mg; 46,8 S; 8,1 Cu; 16,4 Mn e 24,6 Zn mL.L⁻¹) e com 2,5 L ha⁻¹ de BM 86 (41,7 N; 30 Mg; 25 S; 20,6 B; 0,1 Mo mL L⁻¹), dissolvidos em 200 a 378 L de água, aumentaram em 74% a produção de frutos comerciáveis de tomate cv. Sunny. Por outro lado, Csizinszky (1986) obteve redução na produção comerciável de tomate com duas aplicações de MZ63 e duas aplicações de BM86.

Pereira & Mello (2002) conduziram experimento de campo com objetivo de testar a aplicação de água de retortagem de xisto betuminoso (resíduo da mineração e industrialização do xisto betuminoso) a 0,5% e 1%, via foliar, sobre a nutrição e a produção do pimentão e do tomateiro. Observaram aumento nos teores foliares de Mg e S, e 27,4% de aumento na produção de frutos de pimentão. Para o tomateiro, as pulverizações com água de retortagem de xisto a 0,5 e 1%, elevaram a produção de frutos entre 60,5 e 93,8%, em comparação à menor dose desse fertilizante.

Nesse trabalho, considerando as perdas e a indisponibilidade de alguns nutrientes (complexados), o biofertilizante enriquecido apresenta-se muito restrito quanto aos teores de Ca, Mg e S, principalmente pelo investimento em minerais,

além da expectativa por melhorar a nutrição da planta, já que esses elementos foram adicionados ao biofertilizante, em uma proporção relativamente alta, em relação aos demais. Considera-se também que o teor foliar de zinco em excesso para o feijão ou outra cultura pode prejudicar o crescimento da planta e reduzir a produção. Portanto, maior questionamento deve ser feito sobre a escolha correta dos elementos e fontes, a serem utilizados no preparo de biofertilizantes, pelas razões vistas neste trabalho. A mistura de diferentes nutrientes e fontes, de origem mineral e orgânica, mostrou uma forte interação entre eles, tornando-os com baixa concentração livre (disponibilidade imediata para as plantas). Logo, o planejamento adequado da composição química do biofertilizante que vai ser produzido e a espécie que vai ser utilizada pode assegurar, maior eficiência agrônômica e retorno econômico com a aplicação do produto.

A preocupação com o zinco é muito grande, principalmente nos solos dos cerrados no Brasil Central, onde o zinco apresenta-se deficiente de maneira generalizada, sendo a maioria desses solos formados por latossolos e podzólicos altamente intemperizados, ácidos e com baixa capacidade de troca de cátions, limitando principalmente a produção de grandes culturas (Fageria, 2002). Com base nisso, além do feijão, outras plantas cultivadas nessas condições também poderão se beneficiar desse biofertilizante, como a soja, a cana-de-açúcar, e principalmente o arroz, que é exigente em zinco e muito cultivado nos solos do cerrado.

Os resultados obtidos nesse trabalho indicam que o biofertilizante enriquecido apresenta baixas concentrações de Ca, Mg e S e altas concentrações de zinco, ambos não são desejáveis, uma vez que podem limitar a produção do feijão ou pela falta ou pelo excesso. Para resolver essa questão, mais pesquisas são necessárias para confirmar essas informações. Testar esse produto em outras culturas, sob diferentes condições edafoclimáticas de manejo, épocas e doses de aplicação. É importante também pesquisar outras cultivares de feijoeiro, principalmente pela importância que apresentam para a agricultura familiar e para o Brasil. O cultivo do feijoeiro, principalmente no período da seca, em solos pobres, de baixa fertilidade, pode também ser uma boa alternativa de utilização dos biofertilizantes líquidos em pulverização foliar.

4. CONCLUSÃO

De acordo com a proposta inicial do trabalho e a partir dos resultados obtidos, conclui-se que:

- o biofertilizante líquido enriquecido aumentou significativamente a produção em 16% (270 kg ha^{-1}), o número de grãos por vagem e não influenciou as outras características fitotécnicas da cultivar Paina. Os teores foliares de macronutrientes foram bastante variáveis, mas os teores dos micronutrientes (Zn, Cu, B e Fe) aumentaram significativamente com a dose aplicada. A concentração de 10% foi a que proporcionou melhores resultados para a produção e para a nutrição da planta;

- o biofertilizante líquido comum reduziu significativamente a produção do feijoeiro e o número de vagens por planta da cultivar Paina. As outras características fitotécnicas e os teores foliares de nutrientes não foram influenciados significativamente pela aplicação desse biofertilizante;

- a análise química do biofertilizante enriquecido e os teores foliares de nutrientes em feijão (cv. BRS Valente) indicaram boa disponibilidade de micronutrientes, mas a aplicação foliar a 20% pode resultar em teores foliares de Zn em excesso. E o biofertilizante comum apresentou baixas concentrações de micronutrientes e não aumentou os seus teores foliares na planta;

- a concentração total e a disponibilidade de N, P, K e S do biofertilizante enriquecido é baixa e os macronutrientes Ca e Mg, apresentam-se parcialmente complexados com sulfato, fosfato, molibdato e com a matéria orgânica, o que diminuiu a disponibilidade para o feijão. Mais de 40% do enxofre adicionado como sulfato foi perdido durante o preparo do biofertilizante. Com isso, a composição e o modo de preparo dos biofertilizantes líquidos devem ser revistos, com propósito de utiliza-los com múltipla finalidade de fertiproteção de plantas.

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E DO CONTROLE DA MANCHA ANGULAR (*Phaeoisariopsis griseola*) PELA APLICAÇÃO FOLIAR DE BIOFERTILIZANTE LÍQUIDO EM FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)

1. INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um alimento utilizado diariamente pela população brasileira, tornando o Brasil, o maior consumidor mundial dessa leguminosa. No entanto, a produção nacional, não atende a essa demanda interna, devido à baixa produtividade obtida, decorrente de problemas associados principalmente a doenças de difícil controle, ao alto custo dos pesticidas e da precária situação financeira do pequeno produtor (agricultura familiar), que é responsável por mais de 67% da produção nacional de feijão.

A adaptação edafoclimática dessa planta é ampla, o que permite seu cultivo, durante todo o ano, em quase todos os estados da federação. No entanto, apresenta baixa tolerância a deficiência hídrica e alta sensibilidade a diversas doenças, que somadas, prejudicam muito, o rendimento da cultura. Estas são as principais causas do baixo rendimento da cultura, que foi de 745 kg ha⁻¹ no ano de 2004 (IBGE, 2004).

Dentre as doenças do feijoeiro, atualmente, a Mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) tem se destacado, principalmente pelos prejuízos

causados ao produtor (Sartorato, 2002) e à economia (IBGE, 2004). As perdas causadas por essa doença, podem atingir até 70% em cultivares de feijoeiro suscetíveis (Sartorato & Rava, 1994). A ocorrência da doença no Brasil é generalizada e pode ser observada nas três épocas de plantio da cultura (das águas, de inverno e da seca) (Coelho, 1999).

A utilização de cultivares resistentes ao patógeno tem sido considerada um método eficiente e barato para o controle da doença. Entretanto, atualmente existem poucas cultivares resistentes no mercado, devido à grande variabilidade existente do patógeno *P. griseola* (Sartorato, 2002; Nietzsche et al., 1997). No Brasil o controle da doença tem sido com uso de fungicidas, principalmente utilizados por grandes produtores de feijão. Entretanto, a maior parte da produção vem de pequenas propriedades (agricultura familiar) onde, geralmente fungicidas não são utilizados devido ao alto preço (Sartorato, 2002).

Portanto, o desenvolvimento de tecnologias de baixo custo e apropriadas à agricultura familiar, poderá resolver parte desses problemas. De acordo com Campanhola & Valarini (2001) e Assis et al. (1998), a agricultura familiar apresenta maior potencial para produção orgânica, pois das técnicas e princípios agroecológicos são mais facilmente adotados pelos pequenos agricultores. Desta maneira os biofertilizantes líquidos têm sido uma das alternativas atualmente pesquisadas com essa finalidade (Bettioli et al., 1998; Fernandes, 2000; Medeiro et al., 2003).

Biofertilizantes líquidos são atualmente produzidos em tambores de 200 litros e o produto é obtido após a fermentação anaeróbica de esterco de gado e água por aproximadamente 60 dias. É constituído por substâncias orgânicas, como ácidos orgânicos, álcoois, quelatos organo-minerais, nutrientes essenciais ao metabolismo vegetal (Santos & Akiba, 1996; Bettioli et al., 1998) e células vivas ou latentes de microrganismos do metabolismo aeróbico ou anaeróbico (Oliveira et al., 1986).

Atualmente os biofertilizantes produzidos são enriquecidos com minerais e aditivos, devido ao seu desempenho nos cultivos agrícolas. Não existe uma fórmula única para produção de biofertilizantes, receitas variadas vêm sendo testadas por pesquisadores. As fórmulas mais conhecidas são: o biofertilizante “Supermagro” (Magro, 1994), o biofertilizante “Vairo” (Santos, 1992) e o biofertilizante “Agrobio” (Fernandes, 2000). Uma das principais recomendações

do uso dos biofertilizantes têm sido para controlar pragas e doenças (Santos & Akiba, 1996; Bettiol et al., 1998; Fernandes, 2000; Medeiros et al., 2003; Deleito et al., 2005), principalmente nas culturas da maçã, pêssego, uva, citros, café, tomate, batata e hortaliças em geral. Porém, pesquisas com plantas de feijão e suas doenças, não têm merecido a atenção dos pesquisadores.

Desta maneira, o biofertilizante líquido poderia ser utilizado em pulverizações foliares na cultura do feijoeiro, com múltipla finalidade: conferir à planta maior equilíbrio nutricional, aumentar a capacidade natural de defesa contra pragas e doenças e, conseqüentemente, melhorar a produção. Estas funções poderão ser atendidas, considerando que, na composição química do biofertilizante, pode-se encontrar, nutrientes essenciais, microrganismos benéficos, vivos e latentes, e também metabólitos secundários, quelatos orgâno-minerais, hormônios, com propriedades antifúngicas e bacteriostáticas (Bettiol et al., 1998; Santos & Akiba, 1996; Medeiros et al., 2003). Além disso, não pode ser totalmente descartada a hipótese que substâncias húmicas façam parte da composição química do biofertilizante, devido às evidências já observadas que a aplicação de produtos dessa natureza (biofertilizante, húmus, etc) resulta em maior atividade de enzimas da respiração e da fotossíntese e aumento da absorção de nutrientes (Nardi et al., 2002).

Com base no exposto, objetivou-se avaliar a possibilidade de controle da Mancha angular do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio de pulverização foliar com biofertilizante líquido. Para isso, conduziram-se ensaios em laboratório para avaliar os efeitos diretos de biofertilizantes líquidos na germinação de esporos de *Phaeoisariopsis griseola*. Em casa-de-vegetação e campo, testou-se a aplicação foliar preventiva de biofertilizantes líquidos no controle do patógeno e da doença, em Campos dos Goytacazes, RJ.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos em laboratório, em casa-de-vegetação e câmara de nevoeiro e no campo, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

2.2 Isolamento, produção e armazenamento de *Phaeoisariopsis griseola*

Em 2004, obteve-se cultura pura a partir de plantas de feijoeiro doentes em campo, da Estação Experimental da UENF (Pesagro-Rio), em Campos dos Goytacazes, RJ. Efetuou-se isolamento direto do patógeno em meio MPI (Silveira, 1967) incubando-se a 24^o C, no escuro. Para produção do inóculo, após sete a oito dias, a colônia pura foi transferida para outras placas de Petri, contendo o meio MPI, distribuindo-se uniformemente um macerado de estromas, em toda a superfície da placa. Incubou-se por um período de 10 a 12 dias, nas mesmas condições anteriores. A cultura pura foi mantida por repicagens, a cada período de sete a 10 dias, da mesma forma descrita, visando manter a capacidade de esporulação. As placas não utilizadas logo após a esporulação, foram armazenadas em refrigerador, a 4±2^o C, no escuro.

Os esporos foram coletados por pincelamento da superfície do meio, adicionando-se 10 mL de água esterilizada por placa. A suspensão conidial foi, então, filtrada em gaze estéril e ajustada por contagem em hemacitômetro.

2.3 Meio de cultura MPI (Silveira, 1967, com modificações)

O meio MPI foi obtido pela cocção, por 20 minutos de 100 g de folha de feijoeiro suscetível, 100 g de batata inglesa e 100 g de cenoura. Após cocção e filtragem, adicionou-se 20 g de dextrose, 17 g de ágar, 300 mg de cloronfenicol e 1g de ácido ascórbico, completando-se o volume com água para um litro de meio. Procedeu-se a autoclavagem a 120 ° C / 20min. Placas de Petri com 15 mL desse meio foram acondicionadas em sacos de plástico de polietileno e armazenadas

em refrigerador a 4° C, para serem utilizadas no cultivo e esporulação do fungo *Phaeoisariopsis griseola*.

2.4 Inibição da germinação de esporos

Foram conduzidos dois experimentos em laboratório, com objetivo de avaliar o efeito da concentração de dois biofertilizantes sobre a inibição da germinação de esporos de *Phaeoisariopsis griseola* em meio líquido. No primeiro experimento foram testadas cinco concentrações de biofertilizante comum (T1)(0%, 5%, 10%, 20%, 50%) e, no segundo, cinco concentrações do biofertilizante enriquecido (T2) (0%, 5%, 10%, 20%, 50%). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. A unidade experimental foi representada por um tubo de micro-centrífuga contendo a suspensão de esporos em solução salina (NaCl 0,8%) com as diferentes concentrações de biofertilizantes.

Para se evitar o efeito de microrganismos antagonistas presentes nos biofertilizantes, estes foram esterilizados por filtração. Para isso, os dois biofertilizantes foram submetidos à centrifugação de 20000 rpm por três horas (marca MEGA 21R) e duplamente filtrado em membrana milipore de 0,7 µm e de 0,2 µm, respectivamente.

Os biofertilizantes estéreis (por filtração) foram diluídos em água desionizada e esterilizada e pipetados para os tubos de microcentrífuga de 1000 µL, nas seguintes proporções: 0,0 µL (0%); 50 µL (5%); 100 µL (10%); 200 µL (20%); e 500 µL (50%). Em seguida, foram adicionados 200 µL de uma suspensão de conídios de *P. griseola* de densidade 3×10^5 esporos / mL e mais 200 µL de uma solução salina e completou-se o volume para 1000 µL. No final da mistura das soluções, a suspensão de conídios ficou com uma densidade aproximada de 6×10^4 esporos / mL. Incubou-se no escuro a 24° C, sob agitação orbital de 30 rpm. Após 24 e 48 horas, efetuaram-se as contagens do número de esporos germinados (EG) e não germinados (ENG) ao microscópio, a partir de lâminas preparadas com as suspensões de esporos. Para cada suspensão (parcela) contaram-se cinco pontos visuais (aumento de 500 vezes).

Contou-se um número total mínimo de 50 esporos (EG+ENG) por repetição (200 esporos por tratamento). Considerou-se esporo germinado aquele que apresentou comprimento do tubo germinativo superior ao tamanho do esporo.

Os dados de número de EG e ENG foram convertidos para porcentagem de inibição da germinação, corrigido para a média de esporos que naturalmente não germinaram na parcela controle (0% de biofertilizante), de acordo com a fórmula:

$$IG_{\text{corrigido}} = \frac{(\%IG_{ij} - \%IG_T)}{100},$$

em que:

$IG_{\text{corrigido}}$ = inibição de germinação (proporção de esporos não germinados em relação à testemunha);

$\%IG_{ij}$ = % da inibição da germinação da concentração i aplicada na repetição j ;

$\%IG_T$ = % da inibição da germinação média da concentração zero (testemunha).

2.5 Experimento em condições controladas

O experimento foi arranjado em parcela subdividida 5x2x2+1, onde foram testadas em feijoeiro (cv. Xamego) cinco concentrações de biofertilizante (0; 2,5%; 5%; 10%; e 20%), duas formulações de biofertilizante líquido (T1 e T2) e dois períodos de tempo entre a aplicação foliar do biofertilizante e a inoculação do patógeno (um dia e sete dias), além de um tratamento adicional (sem biofertilizante e não inoculado). Os fatores concentração e biofertilizantes foram alocados na parcela e o tempo na sub-parcela. A unidade experimental (UE) foi constituída por um vaso com três plantas de feijoeiro. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições.

As plantas de feijão cresceram em vaso, com capacidade para 3,5 Kg de terra (Horizonte A de um Argilssolo Amarelo) em casa-de-vegetação.

Seis sementes de feijão cv. Xamego foram semeadas em cada vaso e após uma semana da emergência realizou-se o desbaste deixando-se as quatro plantas mais vigorosas em cada vaso.

A adubação de base foi realizada na forma de solução diluída em água desionizada e aplicada sobre os vasos antes do plantio. As quantidades de fertilizantes aplicadas foram as seguintes: 35 mg kg⁻¹ de solo de N (como uréia);

157,5 mg kg⁻¹ de solo de P₂O₅ (como fosfato mono-amônio); e 70 mg kg⁻¹ de solo de K₂O (como cloreto de potássio); adubação de cobertura de 52,5 mg kg⁻¹ de solo de N (como uréia) foi realizada aos 18 dias após a emergência das plantas, em todas as plantas (d.a.e - V3/R4). Esses fertilizantes foram dissolvidos em água e aplicados nos vasos na forma de solução, com auxílio de uma pipeta graduada. No mesmo dia da adubação de cobertura, metade das plantas foi transferida para câmara de nevoeiro, onde os tratamentos foram aplicados, por meio da pulverização foliar de biofertilizantes, utilizando-se um atomizador manual.

Na câmara de nevoeiro, o nebulizador foi regulado para ser ligado/desligado a cada 20 minutos. A luz foi provida por lâmpadas fluorescentes brancas, com densidade de fluxo de fótons aproximada de 100 μmol de fótons m⁻² s⁻¹ e com foto-período noturno de 16 horas. A temperatura e umidade relativa médias referentes ao período de condução do experimento foram: UR%: mínima de 72% e máxima de 99%; Temperatura: mínima de 24° C e máxima de 29° C.

Na semana seguinte (sete dias depois) a outra metade das plantas que ainda estavam na casa-de-vegetação, foi também levada para a câmara de nevoeiro, onde foram pulverizadas com os biofertilizantes (25 d.a.e). Exceto o tratamento adicional, que foi pulverizado com água pura (testemunha). Aos 49 d.a.e. foi realizada uma pulverização nas plantas com Vertimec (3,0 mL / litro), para controlar ácaros.

Aos 26 dias após a emergência das plantas foi realizada a inoculação das plantas com suspensão de conídios (2 x 10⁴ conídios / mL + Tween 80 à 0,01%) com auxílio de um atomizador manual, pulverizando-se a planta inteira. O tratamento adicional foi pulverizado com água pura com Tween 80 à 0,01% (não inoculado).

Foram avaliados a área foliar, os teores foliares de nutrientes (25 d.a.e) e a severidade da mancha angular, em três épocas após aplicação do biofertilizante, aos 46 (28 d.a.t), 51 (33 d.a.t) e 56 (38 d.a.t) dias após a emergência e após aplicação dos biofertilizantes, respectivamente.

Uma planta por vaso (por repetição) foi amostrada e a área foliar medida, com auxílio do medidor de área foliar (MODEL 3100 / LI-COR®). Para a determinação dos nutrientes foram coletados três trifolíolos mais desenvolvidos por planta (repetição) de acordo com a metodologia de análise descrita no Capítulo I.

A severidade da Mancha angular, definida como a percentagem de área foliar lesionada foi estimada (%AFL), visualmente, com base em escala diagramática desenvolvida por Godoy et al. (1997). Para quantificar a severidade da mancha angular das plantas, foi atribuída uma nota para o folíolo central do trifolíolo. Assim, cada repetição foi representada pela média das notas de 12 folíolos, selecionados aleatoriamente nas três plantas de cada vaso (quatro notas por planta). Os dados da severidade da mancha angular foram utilizados para calcular a Curva de Progresso da Doença (CPD) e a Área Abaixo da Curva do Progresso da severidade da Doença mancha angular (AACPD) (Campbell & Madden, 1990). Considerando que foram realizadas três amostragens de cinco em cinco dias (t), assim a AACPD foi obtida pela seguinte equação:

$$AACPD = 5 \sum_{i=1}^3 \frac{(S_t + S_{t-1})}{2},$$

em que:

AACPD = Área Abaixo da Curva do Progresso da severidade da Doença mancha angular;

S_t = severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada) avaliada no tempo t;

S_{t-1} = severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada) avaliada no tempo anterior ao t;

2.6 Experimento em condições de campo

O experimento conduzido no campo é o mesmo do Capítulo I. O experimento foi arranjado em esquema fatorial 2x4, onde foram testadas quatro concentrações (0; 5%; 10%; e 20%) e duas formulações de biofertilizantes líquidos (T1 e T2) em pulverizações foliares do feijoeiro (cv. Paina, Tipo II). A unidade experimental (UE) foi constituída por 10 linhas de feijoeiro de quatro metros de comprimento por meio metro de espaçamento entre as linhas (20 m²). A parcela útil foi constituída pelas seis linhas centrais da UE, descartando-se meio metro de cada extremidade (9 m²). Foi feito, o plantio de duas fileiras de feijão ao redor da área experimental, onde as plantas foram inoculadas, uma vez, com uma suspensão de esporos do patógeno *Phaeoisariopsis griseola*, aos 22 dias após a emergência (estádio V3). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições.

Nas avaliações de doenças foram selecionadas, aleatoriamente, seis plantas no centro de cada unidade experimental (duas linhas centrais) e etiquetadas com fita vermelha, na posição do colo da planta, para posterior identificação e leitura da severidade da mancha angular. Essas plantas foram inoculadas, uma vez, com suspensão de 2×10^4 conídios / mL de água (Sartorato, 1991) (com Tween 80 a 0,01%), com auxílio de um atomizador manual, aos 31 d.a.e (estádio R5). O volume médio de suspensão conidial pulverizada foi de 3,0 mL / planta. A temperatura registrada na hora (18:00) da inoculação foi de 20° C e a umidade relativa do ar de 90%; o tempo apresentava-se nublado e com chuva leve.

As variáveis analisadas no experimento de campo foram, a produtividade final, o número de vagens por planta, o índice de área foliar, os teores foliares de nutrientes e a severidade da mancha angular, em três épocas após aplicação do biofertilizante.

Para quantificação da severidade da mancha angular, foi estimada a % AFL média da planta inteira, utilizando a mesma escala diagramática do experimento anterior. Foram realizadas três avaliações das plantas inoculadas no centro da parcela e três avaliações de outras plantas da parcela (não inoculadas), no mesmo dia, em todas as unidades experimentais do experimento, nos seguintes estádios fenológicos (d.a.e) e dias após a aplicação dos tratamentos (d.a.t.): (1) a primeira avaliação, realizada em R7, aos 44 d.a.e e aos 14 d.a.t.; (2) a segunda avaliação, realizada em (R7/R8), aos 51 d.a.e e 21 d.a.t.; e (3) a terceira avaliação, realizada em (R8), aos 58 d.a.e e 28 d.a.t. (Tabela 16). A severidade da doença foi avaliada em três plantas amostradas em quatro pontos da parcela útil, dispostos em forma de "X". Para quantificar a severidade da mancha angular dessas plantas foi atribuída uma nota para a planta inteira, de acordo com a escala diagramática (Godoy et al., 1997). A variável severidade da Mancha angular (a % AFL média da planta inteira) foi obtida pela média das notas das plantas identificadas em cada unidade experimental. Os dados da severidade da mancha angular foram utilizados para calcular a CPD e a AACPD (Campbell & Madden, 1990). Considerando que foram realizadas três amostragens de sete em sete dias (t), assim a AACPD foi obtida pela seguinte equação:

$$AACPD = 7 \sum_{i=1}^3 \frac{(S_i + S_{i-1})}{2},$$

Tabela 16. Quadro demonstrativo das datas e estádios fenológicos das atividades realizadas no experimento de campo (Capítulo I), com objetivo de avaliar a severidade da Mancha angular em resposta à aplicação foliar preventiva de duas formulações de biofertilizante líquido e quatro concentrações (0%; 5%. 10%; e 20%). UENF, setembro a dezembro de 2004.

Atividades realizadas	DATA	DAE¹	DAT²
Emergência da plantas	17/9/2004	0 / V1	-
Adubação de cobertura (Uréia)	7/10/2004	20 / V3	-
Aplicação foliar biofertilizante (1 ^a)	12/10/2004	25 / V4	-
Aplicação foliar biofertilizante (2 ^a)	17/10/2004	30 / V4-R5	0
Inoculação das plantas (fungo) ³	18/10/2004	31 / R5	1
Amostragem foliar (nutrientes)	22/10/2004	35 / R5-R6	5
Amostragem plantas (área foliar)	25/10/2004	38 / R6	8
1 ^a avaliação da M. angular	31/10/2004	44 / R7	14
2 ^a avaliação da M. angular	7/11/2004	51 / R7-R8	21
3 ^a avaliação da M. angular	14/11/2004	58 / R8	28
Colheita final (produção)	8/12/2004	82 / R9	52

⁽¹⁾ **V1**: emergência; **V3**: primeiro trifólio completamente desenvolvido; **V4**: terceiro trifólio completamente desenvolvido; **R5**: início da fase reprodutiva; **R6**: primeiras flores abertas; **R7**: início da formação de vagens; **R8**: enchimento de vagens; **R9**: ponto de maturação fisiológica; ⁽²⁾ Dias após a aplicação dos biofertilizantes; ⁽³⁾ Inoculação de seis plantas no centro da parcela, realizada apenas uma vez.

em que:

AACPD = Área Abaixo da Curva do Progresso da severidade da Doença mancha angular;

S_t = severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada) avaliada no tempo t ;

S_{t-1} = severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada) avaliada no tempo anterior ao t ;

2.7 Análise estatística

Primeiramente foi realizada análise qualitativa dos dados, de acordo com as pressuposições dos testes paramétricos (Capítulo I). Posteriormente, adotou-se o procedimento de análise de variância (ANOVA) para todas as variáveis, de acordo com o respectivo modelo estatístico de cada experimento.

Para a inibição da germinação, fez-se a ANOVA geral e ANOVA da regressão utilizando os dados de porcentagem de esporos não germinados (ENG). Para montar o gráfico utilizou-se os dados de ENG, subtraída do efeito da variação casual inicial do número de esporos entre os tratamentos, obtendo-se a inibição da germinação dos esporos em porcentagem.

Os teores de nutrientes e a AACPD do feijoeiro do experimento de campo (cv. Paina, Capítulo I) e do experimento em câmara de nevoeiro (cv. Xamego), foram analisados por meio de correlação de Pearson, usando teste t Student a 5%. A severidade da mancha angular, avaliada nas diferentes épocas (do experimento de campo e da câmara de nevoeiro), foi analisada em parcela subdividida. Os fatores biofertilizante e concentração foram alocados na parcela e o tempo, na sub-parcela.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Inibição da germinação de esporos

Houve efeito significativo ($P < 0,01$) da inibição dos esporos em meio líquido para os dois biofertilizantes em função do aumento da concentração (Figura 5-A e 5-B). O biofertilizante comum apresentou efeito fungistático somente em concentrações acima de 37% ($P < 0,05$), com máxima inibição dos esporos de 20% para uma diluição de 50% do biofertilizante (Figura 5-A). Para o biofertilizante enriquecido, a máxima inibição foi atingida com a concentração de 27%, apresentando efeito fungistático de 22% sobre os esporos viáveis. Acima dessa concentração, a atividade fungistática do biofertilizante diminuiu acentuadamente, apresentando 11,2% de inibição para a maior concentração testada (Figura 5-B).

Essa diferença observada entre os biofertilizantes possivelmente esteja relacionada, entre outros fatores, com a composição química e a concentração dos solutos presentes em cada produto. Uma diferença marcante na composição química dos nutrientes os dois biofertilizantes foi constatada (Tabela 3 e 4 Capítulo I). É importante salientar que durante o preparo do biofertilizante enriquecido (100 litros) foi adicionado 150 g de sulfato de cobre, finalizado o processo de fabricação, a análise química do produto revelou concentração de

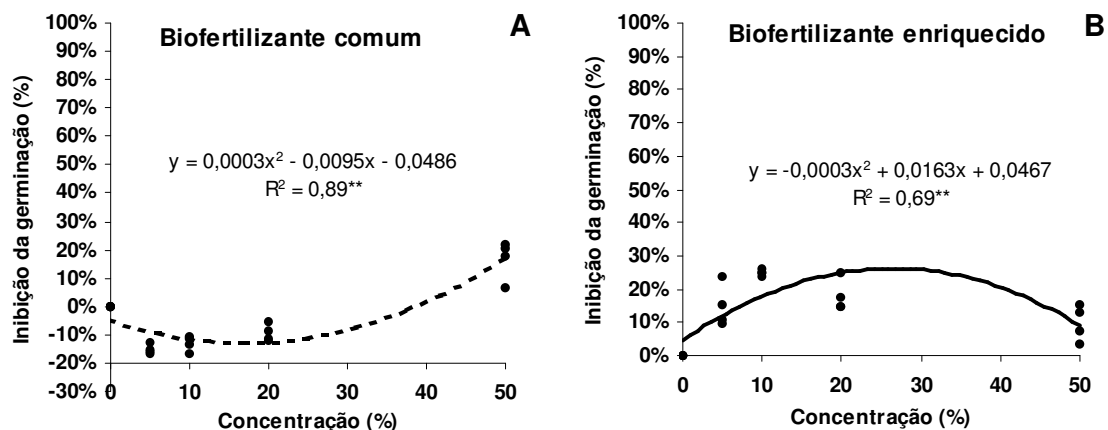


Figura 5. Inibição da germinação de esporos de *Phaeoisariopsis griseola*, em meio líquido salino (0,8%), em função da concentração (%) do biofertilizante comum (A) e do biofertilizante enriquecido (B) após filtração milipore 0,2 μm . Cada ponto corresponde à média de quatro repetições (leitura de no mínimo de 50 esporos, germinados e não germinados), já corrigida o efeito da variação casual inicial do número de esporos entre os tratamentos. Percentagem de esporos germinados na concentração zero (A= 61,0% e B=52,3%). UENF, setembro a outubro de 2004.

cobre na forma solúvel de $2,0 \text{ mg dm}^{-3}$, quando o biofertilizante foi diluído para 50% (Tabela 4, Capítulo I). Esse valor pode ser suficiente para inibir a germinação de esporos, em geral, para a maioria dos fungos fitopatogênicos. Entretanto, a eficiência de inibição foi muito baixa, principalmente quando foram utilizadas altas concentrações do biofertilizante.

Pode-se observar uma alta concentração de cloro no meio líquido utilizado para germinação dos esporos. O meio líquido salino foi preparado adicionando-se 0,8% de NaCl ($4,85 \text{ g dm}^{-3}$ de Cl^-), considerando ainda com 0,8% de CaCl_2 adicionado durante o preparo do biofertilizante, para uma diluição do mesmo em 50%, a concentração final de Cl^- é de $7,40 \text{ g dm}^{-3}$. Segundo Alvarez-Puebla et al. (2004), a presença de cloreto (Cl^-) em solução contendo cobre (Cu^{++}) e substâncias húmicas pode resultar na formação de outra espécie química $[\text{CuCl}_4]^{-2}$, que é estável em solução devido a sua carga negativa, comparado com as substâncias húmicas. Portanto, não necessariamente o fato de existir alta concentração de cobre total pode indicar que o produto apresenta características potenciais como fungicida.

Esses resultados confirmam o que a literatura já vinha relatando da presença de substâncias antimicrobianas na composição do biofertilizante (Santos & Akiba, 1996; Tratch 1996; Deleito et al., 2005). No entanto, a eficiência de inibição de esporos de *P. griseola* foi baixa (até 25%), discordando dos resultados encontrados na literatura para outros fungos (até 100% de inibição) (Tratch, 1996).

A comprovação da ação inibidora do biofertilizante comum sobre a germinação de conídios foi observada por Castro et al. (1991), em experimentos realizados *in vitro*, com o biofertilizante “Vairo” (sem minerais), produzido a partir da fermentação anaeróbica do esterco bovino, onde verificaram ação fungistática sobre os fungos, *Colletotrichum gloesporioides*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Penicillium digitatum* e *Fusarium* sp.. Posteriormente, Tratch (1996), observou efeito na inibição da germinação pelo biofertilizante enriquecido Supermagro. Verificou, de modo geral, que concentração acima de 10% resulta em completa inibição da germinação de diversos fungos, entre eles, *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria solani*, *Stemphylium solani*, *Septoria lycopersici*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*. Atividade antimicrobiana de biofertilizantes também foram observadas em fitobactérias. Recentemente Deleito et al. (2005), em testes realizados *in vitro*, observaram ação bacteriostática do Agrobio® em concentrações acima de 5% (filtrado a 0,22 µm e/ou autoclavado a 120°C/20 min) contra *Xanthomonas vesicatoria* (agente causal da mancha bacteriana do pimentão). Segundo os autores, a ação bacteriostática *in vitro*, pode estar associada à presença de *Bacillus subtilis* no biofertilizante (Deleito, 2002), já que é reconhecido como um grande produtor de antibióticos (Bettiol & Kimati, 1990).

Alterações da inibição da germinação, em função da concentração, já foram relatadas na literatura. Tratch (1996), verificaram que esporos de *B. cinerea* germinaram menos em água do que nas concentrações entre 2,5 e 5% do biofertilizante. Porém, com o aumento da dosagem ocorreu redução na porcentagem de germinação e a 40% a inibição dos conídios foi total. Bonaldo et al. (2004) observaram alterações na morfologia dos tubos germinativos de *Colletotrichum lagenarium* (agente causal da antracnose do pepino) com o uso de extrato aquoso de eucalipto. Pelos resultados, chegou-se a conclusão que o aumento da concentração do extrato aquoso (não autoclavado) de 1% para 20%,

o tamanho do tubo germinativo reduziu drasticamente, em relação ao tamanho do esporo.

Tratch (1996) observou maior germinação dos conídios de *B. cinerea*, quando biofertilizantes eram testados em baixas concentrações e, segundo o autor, isso ocorreu possivelmente em virtude da necessidade do fungo por nutrientes para iniciar o processo de germinação, concordando com os resultados observados neste trabalho, que em baixas concentrações houve mais esporos germinados do que não germinados tanto para o biofertilizante comum quanto para o enriquecido.

A atividade fungistática comprovada dos biofertilizantes em testes *in vitro*, pode estar relacionada à presença de metabólitos secundários produzidos por microorganismos durante o seu preparo. Dentre eles, rizobactérias do gênero *Bacillus* já foram encontradas em biofertilizantes (Bettiol et al., 1997). Essas bactérias são conhecidas como produtoras de antibióticos com ação antifúngica e que promovem o controle de diversos fitopatógenos (Batista Júnior et al., 2002; Bettiol et al., 1997). Em ensaios realizados *in vitro*, Carvalho et al. (2005) testaram a germinação de esporos do fungo causador da mancha manteigosa em mudas de cafeeiro (*Colletotrichum gloeosporioides*), na presença de 42 filtrados de rizobactérias em concentrações crescentes e observaram ampla variação quanto à atividade antifúngica *in vitro* contra o fungo, sendo os cinco mais promissores, chegando a inibir totalmente a germinação de esporos do fungo, quando a concentração foi de 100%.

Os resultados observados nesse trabalho mostram que os dois biofertilizantes líquidos apresentaram baixa atividade antifúngica contra *P. griseola*, comprovada pelos ensaios conduzidos em meio líquido salino a 0,8%. Portanto, com apenas 25% de inibição da germinação dos esporos (BIO SM ou BIO CM), seria pouco provável uma redução significativa da patogênese pela aplicação foliar desses biofertilizantes em feijão no campo. Para isso, dois experimentos com plantas, cultivadas em vasos e em campo, foram conduzidos, com o objetivo de avaliar a reação da planta, quando o patógeno esteja em interação com seu hospedeiro.

3.2 Experimento em condições controladas

A aplicação preventiva de biofertilizante não alterou significativamente ($P>0,05$) a área abaixo da curva do progresso da severidade da mancha angular (AACPD) (Figura 6-A). No entanto, a AACPD foi diretamente influenciada ($P<0,05$) pela concentração dos biofertilizantes. Houve aumento da AACPD com a concentração entre 5% e 10%, independentemente do biofertilizante (Figura 6-A) e que a aplicação antecipada aumentou ($P<0,05$) a quantidade total da mancha angular, principalmente com a aplicação de biofertilizante comum (Figuras 6-A e 6-B). Por outro lado, pode-se observar uma pequena redução da AACPD, para os dois biofertilizantes, com a aplicação foliar até a concentração de 2,5% (Figuras 6-A e 6-B).

Comparando esses dados da AACPD com o controle (água pura) observamos mais claramente o efeito dos biofertilizantes. A aplicação de biofertilizante enriquecido não reduziu ($P<0,05$) a AACPD, mas, o contrário foi observado com aplicação antecipada (sete dias) do biofertilizante comum ($P<0,05$), em relação ao tratamento controle (Figura 7-A). Isso indica que, em condições controladas a mancha angular do feijoeiro não foi restringida pela aplicação de biofertilizantes, nem por efeito direto sobre as estruturas dos esporos do fungo tampouco pela aplicação preventiva.

Carvalho et al. (2005) observaram que quando a inoculação do fungo (*Colletotrichum gloeosporioides*) foi realizada juntamente com a aplicação de filtrados de rizobactérias em mudas de cafeeiro, não foi observado nenhuma diferença entre os tratamentos testados.

Esses valores de AACPD foram baixos, comparados com os valores citados na literatura. A severidade (% área foliar lesionada) da Mancha angular registrada na câmara de nevoeiro aumentou significativamente ($P<0,01$) com o estágio de desenvolvimento das plantas, como mostra o progresso severidade da doença na Figura 7-B. Nesse caso, o progresso da doença aumentou, sem nenhum controle da aplicação dos biofertilizantes. Além disso, observou-se efeito da inoculação com o patógeno, contatado pelos resultados do tratamento adicional (sem inoculação, sem biofertilizante e sem água), apresentando valor (AACPD=0,24, não mostrado) significativamente inferior à média dos tratamentos inoculados (AACPD=4,65).

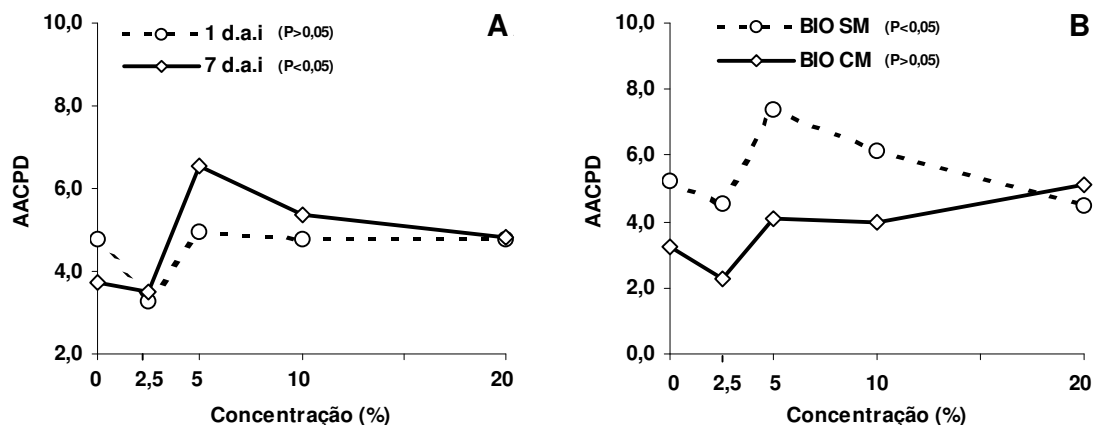


Figura 6. Área abaixo da curva do progresso da severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada)(AACPD) de plantas de feijoeiro (cv. Xamego) cultivada em câmara de nevoeiro, em função da aplicação preventiva de biofertilizante (Gráfico A) comum (BIO SM) e enriquecido (BIO CM) (Gráfico B), um dia ante da inoculação com *P. griseola* (1 d.a.i) e sete dias (7 d.a.i). UENF, outubro a dezembro de 2004.

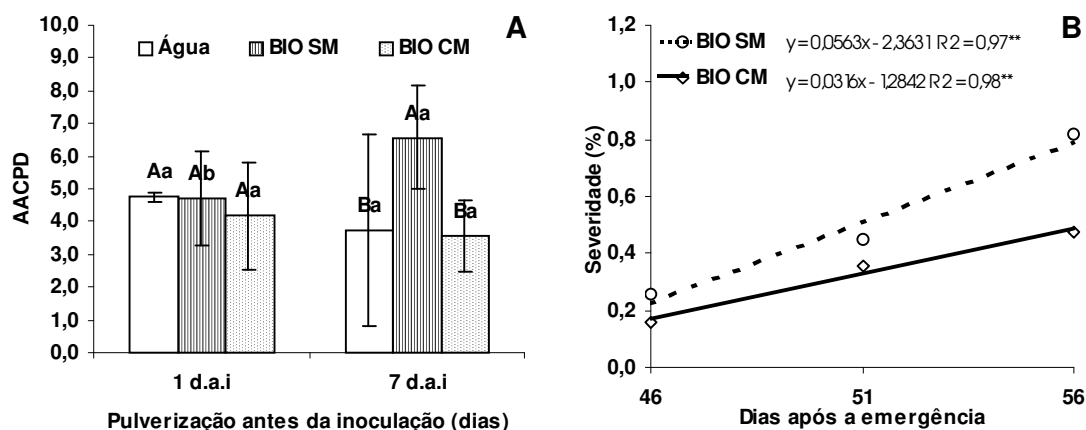


Figura 7. Área Abaixo da Curva do Progresso da severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada) (AACPD) (Gráfico A) e Curva de Progresso da severidade da Mancha angular (Gráfico B) de plantas de feijoeiro (cv. Xamego) em câmara de nevoeiro, submetidas à aplicação foliar preventiva (1 dia e 7 dias antes a inoculação *P. griseola*) de biofertilizante comum (BIO SM) e enriquecido (BIO CM). Dentro do mesmo grupo de plantas (1 d.a.i ou 7 d.a.i) colunas seguidas de mesma letra maiúscula são iguais entre si pelo teste Tukey e quando seguidas de mesma letra minúscula são iguais entre si pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade. Barras na vertical significam desvio padrão. UENF, outubro a dezembro de 2004.

A severidade média na primeira e na última avaliação foi de 0,26% e 0,82% (biofertilizante comum) e de 0,16% e 0,47% (biofertilizante enriquecido), respectivamente. De acordo com Garcia (1998), a curva de progresso da mancha angular aumentou linearmente com as épocas de avaliação, apresentando magnitude de resposta da severidade (experimento de campo) entre 1% e 10%. Segundo Sartorato & Rava (1992), essa magnitude pode variar em função do método de quantificação dessa doença, do número de inoculação com o patógeno, dentre outros fatores.

A Tabela 17 mostra as correlações de Pearson da AACPD com o índice de área foliar (IAF) e com os teores foliares de macro e micronutrientes. Somente houve correlação significativa da AACPD com o teor de cálcio ($r=0,85^*$) e com o teor de ferro ($r=-0,79^*$) quando foi aplicado biofertilizante comum. Esse efeito também foi observado com a aplicação do biofertilizante enriquecido, mas os resultados não foram significativos ($P>0,05$).

A relação entre o teor de cálcio e AACPD foi positiva, indicando que pode ter contribuído de alguma forma para a sobrevivência ou infecção dos esporos na superfície da folha, porque o efeito observado foi somente quando tempo entre a aplicação e inoculação foi de 24 horas, já não observado quando esse tempo foi de sete dias, mas o contrário ocorreu para o teor de ferro, que se relacionou negativamente com a doença, quando o biofertilizante foi aplicado preventivamente (Tabela 17).

Esses resultados mostram que o efeito real da aplicação de biofertilizante sobre a mancha angular não está claro, pois os resultados da AACPD foram maiores com aplicação antecipada de sete dias (Figura 7-A). Isso é um indicativo de causa e efeito, mas os fatores (Cálcio e Mancha angular) podem ser independentes entre si, expressando seus resultados em função de outros fatores não abordados nesse trabalho. Além disso, de acordo com os resultados, dificilmente apenas um ou dois nutrientes seriam suficientes para explicar todo o processo de desenvolvimento da doença. De acordo com Csinos et al. (1984) em geral, a causa primária do ataque de alguns patógenos é o desbalanço nutricional, envolvendo cálcio, magnésio e enxofre. A correlação negativa entre os teores de ferro e a mancha angular pode estar relacionada ao próprio papel dos nutrientes no metabolismo da planta. A deficiência de ferro pode resultar na suscetibilidade das células, pois é essencial para a síntese de fitoalexinas e

Tabela 17. Correlação linear de Pearson da AACPD do feijoeiro (cv. Xamego) cultivado em vaso em câmara de nevoeiro, com a área foliar e os teores foliares de macro e micronutrientes, em função da aplicação foliar de biofertilizante comum (BIO SM) e enriquecido (BIO CM) e dois intervalos de tempo entre a aplicação foliar dos biofertilizantes e a inoculação com o patógeno (*P. griseola*) (um dia e sete dias antes da inoculação) (d.a.i). Tamanho da amostra (n=5) UENF, outubro a dezembro 2004.

Características	Biofertilizante comum		Biofertilizante enriquecido	
	1 d.a.i	7 d.a.i	1 d.a.i	7 d.a.i
Área foliar	-0,26	0,49	0,01	0,74
N-NH ₄ ⁺	-0,45	0,16	-0,60	-0,16
HPO ₄ ⁻²	-0,67	-0,15	-0,23	0,10
K ⁺	-0,54	-0,02	0,08	-0,22
Ca ⁺⁺	0,85*	-0,14	0,70	0,56
Mg ⁺⁺	-0,47	-0,24	-0,28	-0,66
SO ₄ ⁻²	-0,09	-0,20	-0,49	-0,18
Cl ⁻	0,45	-0,03	0,42	0,62
Zn ⁺⁺	0,58	-0,07	0,63	0,57
Mn ⁺⁺	0,53	0,19	0,31	0,65
Cu ⁺⁺	-0,56	-0,11	0,72	0,53
Fe ⁺⁺	0,02	-0,79*	0,22	0,20
B	-0,07	0,07	0,70	0,69

⁽¹⁾ Teores de macro e micronutrientes determinados 27 dias após a emergência das plantas; (*) Significativo a 5% e (**) significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

indução de resistência às doenças (Pozza & Pozza, 2003). Uma outra possibilidade está no fato de o íon ferro atuar na diminuição da virulência e na agressividade do patógeno, relacionando-se com as informações obtidas *in vitro*, onde o aumento da concentração do meio resultou na diminuição da germinação.

Diminuição da doença promovida pela melhoria do estado nutricional da planta foi relatada por outros pesquisadores. Jesus Junior (2001), observou que a aplicação foliar de molibdênio em feijoeiro resultou em decréscimo na intensidade da mancha angular e da ferrugem, incrementos na área foliar, na taxa fotossintética líquida e na produção do feijoeiro. No nosso trabalho observou-se que a doença foi menor com aplicação do biofertilizante enriquecido, que apresenta concentração de Mo 500 vezes superior ao do biofertilizante comum (Tabela 4, Capítulo I), apesar do Mo não ter sido determinado no tecido foliar de feijão. Entretanto, Ferreira (1997), avaliou o efeito da aplicação foliar com ou sem adição de molibdênio, de magnésio, de zinco e/ou de boro na calda Viçosa e não observou diferenças significativas de incidência da mancha angular.

3.3 Experimento em condições de campo

Semelhante ao resultado observado na câmara de nevoeiro pode ser visualizado no campo. Em geral houve redução da AACPD até a concentração de 5%, independente do biofertilizante. A aplicação de biofertilizante comum a 10% aumentou a AACPD avaliada nas plantas inoculadas com o patógeno (Figuras 8-A e 8-B).

Analisando os dados da AACPD, em função dos biofertilizantes, independente da concentração, observa-se que os dois biofertilizantes não reduziram a quantidade total de doença (AACPD total) nas plantas inoculadas, no entanto, houve redução da AACPD total nas plantas não inoculadas com o patógeno, em relação ao controle (Figura 9-A). Isso significa que a concentração do biofertilizante pode ser um importante fator que deve ser levado em consideração. É importante lembrar que as plantas não inoculadas no experimento já apresentavam naturalmente a doença no campo (Figuras 9-A e 9-B).

A curva de progresso da severidade da doença, avaliada em três épocas, aumentou ($P < 0,05$) linearmente com o estágio de desenvolvimento (Figura 9-B), mas as plantas não inoculadas apresentaram menor % de folhas lesionadas e total de doença (Figuras 9-A), com valores de severidade variando entre 0,5% a 4,0%, e AACPD até entre 30 e 30. Esses valores são considerados de baixa intensidade se comparado com os dados da literatura. De acordo com Garcia (1998), a severidade da mancha angular no campo chegou a atingir 10% da %AFL. Sartorato & Rava (1992), considera que para cada aumento de 10% na severidade da Mancha angular pode ocorrer redução de 7,8% no rendimento do feijoeiro. Entretanto, os valores observados nesse trabalho indicam que a mancha angular não afetou consideravelmente a cultura do feijoeiro, mesmo nas parcelas que não receberam biofertilizantes e foram inoculadas com o patógeno.

Entretanto, o baixo nível de controle da M. angular observado nesse experimento de campo, indica que os biofertilizantes não apresentam eficácia no controle da Mancha angular do feijão, apesar de se observar 25% de inibição da germinação de esporos em laboratório. Carvalho et al. (2005) observaram inibição completa da germinação *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, no entanto, nos experimentos com plantas, o nível de controle foi no máximo de 35%. A mancha angular não apresentou níveis altos de severidade, mesmo no tratamento

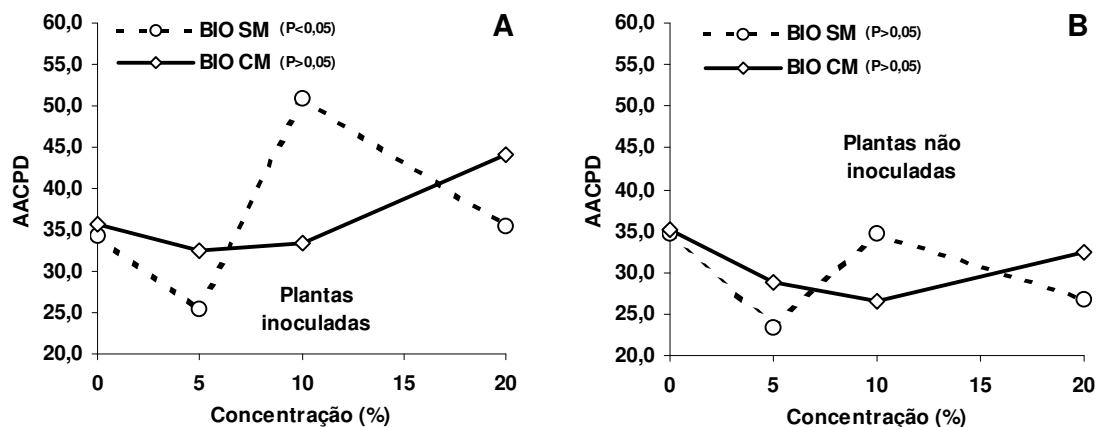


Figura 8. Área abaixo da curva do progresso da severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada)(AACPD) de plantas de feijoeiro (cv. Paina) cultivada no campo, submetidas à aplicação foliar preventiva de biofertilizante comum (BIO SM) e enriquecido (BIO CM) em plantas e inoculadas em (Gráfico A) e em plantas não inoculadas com patógeno *P. griseola* (Gráfico B). UENF, outubro a dezembro de 2004.

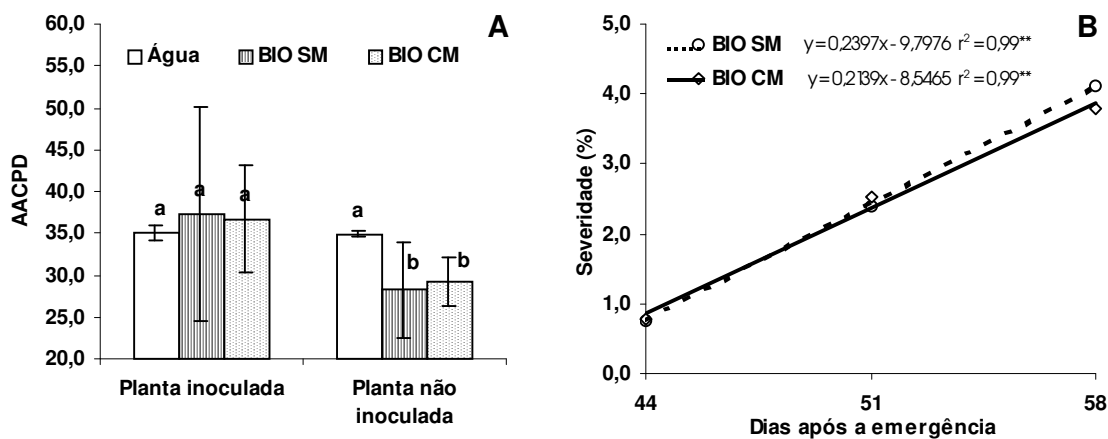


Figura 9. Área abaixo da Curva do Progresso da severidade da Mancha angular (% da área foliar lesionada) (AACPD) (Gráfico A) de plantas inoculadas e não inoculadas com *P. griseola* e Curva de Progresso da severidade da Mancha angular das plantas inoculadas (Gráfico B) de feijoeiro (cv. Paina) cultivada no campo, submetidas à aplicação foliar preventiva de biofertilizante comum (BIO SM) e enriquecido (BIO CM). Dentro do mesmo grupo de plantas (inoculadas ou não inoculadas), colunas seguidas de mesma letra, são iguais entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Barras na vertical significam desvio padrão. (**) significativo a $P < 0,01$. UENF, outubro a dezembro de 2004.

sem aplicação do biofertilizante, isso pode ter contribuído para uma menor ação dos agentes de controle presentes no biofertilizante. Em outro trabalho, Castro et al. (1991) observaram controle de doença no campo, com aplicação de biofertilizante em diversas culturas e doenças, entre elas: a antracnose de jiló (*Colletotrichum gloesporioides*), a podridão (*Thielaviopsis paradoxa*) e a gomose do abacaxi (*Fusarium* sp.), o mofo verde da laranja (*Penicillium digitatum*).

A análise de correlação linear de Pearson foi realizada para medir o grau de relacionamento da variável AACPD com a produtividade, o número de vagens por planta, o índice de área foliar e com os teores foliares de nutrientes das plantas pulverizadas com biofertilizante comum e com biofertilizante enriquecido, inoculadas ou não inoculadas com o patógeno agente causal da mancha angular do feijoeiro (Tabela 18).

Os teores foliares dos macronutrientes, em geral, não se correlacionaram com a AACPD, exceto o Ca e o P. A AACPD das plantas não inoculadas que foram pulverizadas com biofertilizante enriquecido apresentaram correlação negativa ($r=-91^*$) com o teor de Ca, ao mesmo tempo, as plantas inoculadas e pulverizadas com biofertilizante comum apresentaram correlação negativa com o teor de P ($r=-0,96^{**}$) (Tabela 18). Esse feito negativo do cálcio foi o contrário do observado para as plantas pulverizadas com biofertilizante comum no experimento da câmara de nevoeiro (Tabela 17), indicando que o teor de Ca no tecido foliar pode não ser um parâmetro que possa contribuir para a diminuição da mancha angular, considerando que mais pesquisas são necessárias para esclarecer melhor a interação desse patossistema.

A maioria dos fungos patogênicos invade o apoplasto liberando enzimas pectolíticas que dissolvem a lamela média (Taiz & Zeiger, 2004). A atividade dessas enzimas é extremamente inibida pelo Ca, o que explica uma correlação negativa entre teores de Ca e severidade de doenças. Entretanto, os dados observados no experimento mostram uma correlação positiva ($P>0,05$) dos teores de Ca das plantas pulverizadas com biofertilizante comum e a AACPD. O fato dos conídios de *P. griseola* germinarem na superfície da folha e as hifas penetrarem através dos estômatos pode justificar a menor importância do Ca para o controle da doença. Entretanto, com a aplicação do biofertilizante enriquecido, a severidade apresentou correlação negativa com o Ca. Boaretto et al. (1983) concluíram que o cálcio é rapidamente absorvido pelas folhas do feijoeiro, após a

Tabela 18. Correlação linear de Pearson da AACPD do feijoeiro (cv. Paina) cultivado no campo, com a produtividade (Prod), o número de vagens por planta (NVP), o índice de área foliar (IAF)¹ e com os teores foliares de macro e micronutrientes², em função da aplicação foliar de biofertilizante comum e biofertilizante enriquecido e da inoculação e não inoculação das plantas com *P. griseola*³. Tamanho da amostra (n=4) UENF, outubro a dezembro 2004.

Características	Biofertilizante comum		Biofertilizante enriquecido	
	Planta inoculada	Planta não inoculada	Planta inoculada	Planta não inoculada
Prod	-0,63	-0,43	-0,55	-0,99**
NVP	-0,25	0,38	0,33	0,98**
IAF	-0,19	-0,32	-0,23	0,65
N-NH₄⁺	-0,58	-0,78	-0,59	-0,72
HPO₄⁻²	-0,96**	-0,74	0,16	-0,14
K⁺	0,03	-0,32	-0,42	0,54
Ca⁺⁺	0,74	0,83	-0,81	-0,91*
Mg⁺⁺	-0,03	0,01	0,35	-0,64
SO₄⁻²	0,71	0,35	0,74	0,94*
Cl⁻	0,39	0,91*	-0,96**	-0,57
Zn⁺⁺	-0,88*	-0,97**	0,57	-0,41
Mn⁺⁺	-0,99**	-0,82	-0,59	-0,98**
Cu⁺⁺	-0,82*	-0,28	0,64	-0,36
Fé⁺⁺	-0,55	-0,78	-0,22	-0,92*
B	-0,93*	-0,58	0,55	-0,43

⁽¹⁾ índice de área foliar (IAF), medida oito dias após aplicação foliar do biofertilizante (38 d.a.e / R6); ⁽²⁾ Teores de macro e micronutrientes determinados cinco dias após aplicação foliar dos biofertilizantes (35 d.a.e / R5-R6); ⁽³⁾ Severidade da M. angular do feijoeiro, avaliada aos 14, 21 e 28 dias após aplicação foliar dos biofertilizantes (R7, R7/R8 e R8, respectivamente) em plantas inoculadas com o patógeno *P. griseola* e em plantas da parcela, não inoculadas. (*) Significativo a 5% e (**) significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

aplicação por pulverização foliar, entretanto fatores climáticos e variedades diferentes podem promover variações na absorção foliar de nutrientes (Malavolta et al., 1997).

Quanto ao K, na literatura encontram-se trabalhos de que é o único macronutriente que apresenta consistentes resultados positivos na redução da incidência de pragas e doenças, pois a sua deficiência provoca acúmulo de aminoácidos solúveis, que são nutrientes de patógenos. Apesar do teor de K ter reduzido (biofertilizante comum) e aumentado (biofertilizante enriquecido) linearmente com o aumento da concentração desses biofertilizantes, isso não foi suficiente para se correlacionar com a AACPD de plantas de feijoeiro (Figura 2-C e Tabela 18).

Portanto, os biofertilizantes causaram efeitos contrários na interação patógeno-hospedeiro. De acordo com a análise química do biofertilizante enriquecido, a concentração de Ca e de Mg foi relativamente alta (Tabela 3, Capítulo I) e as plantas responderam a adubação, contudo, observou-se um efeito de competição desses nutrientes (Ca+Mg) na absorção do K (Malavolta et al., 1997).

De acordo com Huber (1996), na maioria dos casos, os relatos do K e P, normalmente são de diminuição de doenças das plantas e o N aumento das doenças. No nosso trabalho, a relação do K e do P com a doença foi negativa (diminuição da doença), mas os dados foram bastantes variáveis e pouco confiáveis. Entretanto Pozza et al. (2000), estudaram a mancha de olho pardo de cafeeiro (*Cercospora coffeicola*) e observaram redução da severidade da doença para altos teores foliares de N e baixos teores de K. Segundo os princípios da Teoria da Trofobiose, a resistência das plantas ao ataque por pragas e doenças é diminuída com a aplicação maciça de agrotóxicos e fertilizantes minerais, pois leva ao acúmulo de aminoácidos livres, açúcares redutores, que são nutrientes indispensáveis para diversos patógenos e pragas da plantas (Chaboussou, 1999).

Nunes (2002), comentou que as doenças do feijoeiro são controladas com medidas de manejo integrado às outras práticas, como rotação de cultura, adubação. Para o controle da mancha angular, os teores de N são monitorados e mantidos na faixa de suficiência, pois tem contribuído para redução da doença no campo.

O P, Mg e S são os macronutrientes que menos se relacionam com a ocorrência de doenças, pois a carência destes nutrientes altera pouco as barreiras mecânicas e a síntese de toxinas como as fitoalexinas. Esse fato pode ser confirmado, de uma maneira geral, nesse trabalho. Apesar da correlação significativa do P, uma vez que os seus teores foliares não foram influenciados pela aplicação dos biofertilizantes (Figura 02-B, Capítulo I). Os teores de S apresentaram correlação positiva ($r=0,94^*$) com a severidade, somente com aplicação do biofertilizante enriquecido, enquanto que os teores de Mg não foram significativos.

Alterações dos teores de macronutrientes com aplicação foliar de biofertilizante no patossistema feijoeiro / Mancha angular, não foram encontradas na literatura. Porém, Maringoni (2003) estudou as alterações dos macronutrientes

na massa de matéria seca da parte aérea de plantas de feijoeiro, resistentes e suscetíveis à *murcha-de-Curtobacterium* inoculadas ou não com um isolado de *Curtobacterium flaccumfaciens*. Observou que todas as cultivares testadas apresentaram menores concentrações de N, P, K, Ca, Mg e S, nos tecidos das plantas inoculadas, sendo que menores reduções N, P, K, Ca, Mg foram observadas nas cultivares com maiores níveis de resistência à *murcha-de-Curtobacterium*, principalmente a IAC Carioca Aruã e a IAC Carioca Pyatã, e os teores de S não foram significativamente influenciados.

Muniz (1991) estudou a influência dos teores de cálcio na antracnose do feijoeiro e não encontrou nenhuma relação entre o teor de Ca e a doença. O autor sugeriu que a redução da severidade da antracnose não foi exclusivamente devida ao Ca, mas que os outros nutrientes também poderiam ter contribuído para a redução da severidade da doença.

Pozza & Pozza (2003) sugerem que em uma interação complexa dessa natureza, não é possível generalizar o efeito de um nutriente específico para todas as combinações patógeno-hospedeiro-ambiente. Todas essas alterações dos nutrientes na planta resultaram da combinação de diversos fatores além do nutricional, como fatores genéticos, do ambiente e a interação entre eles (Pozza & Pozza, 2003).

Os micronutrientes, da mesma forma que os macronutrientes também atuam na defesa das plantas contra o ataque de pragas e doenças. De acordo com os resultados, em todas as combinações dos tratamentos, houve correlação negativa entre AACPD e micronutrientes, mas nem sempre foram significativas. Portanto, observou-se correlação negativa da AACPD com os teores de Zn ($r=-0,88^*$; $r=-0,97^{**}$), de Cu ($r=-0,82^*$) e B ($r=-0,93^*$) das plantas pulverizadas com biofertilizante comum, mas nenhum efeito foi observado para as plantas pulverizadas com biofertilizante enriquecido (Tabela 18). No entanto, a AACPD se relacionou com os teores de Fe ($r=-0,92^*$) e de Mn ($r=-0,98^{**}$) devido à aplicação de biofertilizante enriquecido. A correlação da AACPD com os teores de Mn também foi negativa ($r=-0,99^{**}$; $r=-0,98^{**}$), tanto com aplicação de biofertilizante comum quanto do biofertilizante enriquecido, respectivamente. A correlação de Cl com a AACPD foi variável, em função do biofertilizante e da inoculação. Com a aplicação do biofertilizante comum, houve correlação positiva ($r=0,91^*$) entre os teores foliares de Cl e a AACPD. Por outro lado, nas plantas inoculadas a

aplicação do biofertilizante enriquecido resultou correlação negativa ($r -0,96^{**}$) (Tabela 18).

O zinco é importante nutriente necessário à manutenção da integridade das membranas celulares (Marschner, 1995). Segundo Cakmak & Marschner (1988), em plantas deficientes em zinco ocorre aumento da permeabilidade da membrana plasmática, permitindo o vazamento de solutos de baixo peso molecular. Isso pode favorecer à incidência de fungos, Dell & Webb (1982), citados por Graham & Webb (1991), verificaram que plantas de *Eucalyptus marginata* e *Eucalyptus sieberi* carentes em zinco atraíam mais zoósporos de *Phytophthora* para suas raízes devido ao acúmulo de carboidratos e de aminoácidos nos tecidos radiculares.

Os teores de Cu e de B, nas plantas pulverizadas com biofertilizante enriquecido, não se correlacionou significativamente com a AACPD, apesar das plantas terem apresentado resposta positiva ($P < 0,05$) dos teores foliares em função do aumento da concentração (Figura 03-D, Capítulo I). Porém, as plantas pulverizadas com biofertilizante comum não aumentaram significativamente os teores foliares desses nutrientes, mas, apresentaram correlação negativa significativa ($P < 0,05$) com a doença. Isso indica que o Cu e o B não interferiram no desenvolvimento da doença, confirmando os resultados do experimento em laboratório. Segundo Cakamak et al. (1995) a deficiência de boro apresenta efeito direto no vazamento de K e de solutos orgânicos nas células, devido à importância que o elemento apresenta para a manutenção da integridade das membranas plasmáticas.

Nosso trabalho mostrou que os dois biofertilizantes testados pouco contribuíram para a redução da mancha angular do feijoeiro. Em laboratório foi testado o efeito sobre a inibição dos esporos e os resultados não foram muito animadores, se comparado com a eficiência de certos fungicidas. Na câmara de nevoeiro e no campo, a aplicação foliar dos biofertilizantes não controlaram a severidade da mancha angular. Na avaliação dos teores foliares dos nutrientes, pôde-se perceber uma grande variação nas respostas, deixaram margem para mais pesquisas serem realizadas, com a mancha angular e com outras doenças do feijoeiro e de outras culturas. Com essas informações, não seria possível a recomendação desse biofertilizante para o controle da mancha angular do feijoeiro. Entretanto, o importante aqui é saber o que trouxe de novo e o que pode ser feito

em trabalhos futuros. Para o feijoeiro, seria importante considerar nos próximos trabalhos maior investigação da interação da mancha angular com N e com a fixação biológica de N, pois no experimento da câmara de nevoeiro as plantas apresentaram nodulação abundante e não foram inoculadas com Rizóbio. As plantas não apresentaram sintomas de deficiência de N, considerando que a adubação com N foi baixa. Outras formulações de biofertilizantes também devem ser testadas nessa interação patógeno-hospedeiro.

O biofertilizante enriquecido apresenta na sua composição química uma concentração satisfatória de micronutrientes, considerando que são importantes para a nutrição da planta e, em algumas situações podem assumir papel decisivo no controle de alguns patógenos de plantas. Em plantas de arroz, por exemplo, o biofertilizante poderia ser utilizado tanto na nutrição da planta, assim como no controle de *Xantomonas campestris* pv. *Oryzae*. Além do arroz, o algodão e cana-de-açúcar, também são importantes culturas que podem se beneficiar dos do biofertilizante, pois são muito cultivadas na região dos cerrados, onde os solos são pobres em zinco e outros nutrientes. Neste caso, a pulverização foliar pode ser apresentada como uma alternativa adequada para complementar à adubação via solo e, conjuntamente, controlar doenças, principalmente em pequenas propriedades, onde o poder aquisitivo é menor, dificultando o acesso aos insumos modernos e a assistência técnica especializada. A agricultura familiar apresenta melhores condições para produzir o biofertilizante enriquecido de menor custo, considerando o reaproveitamento dos resíduos orgânicos e uso da mão-de-obra familiar, envolvidos no processo de fabricação do produto e sua aplicação nas lavouras. Por isso, acredita-se que os biofertilizantes líquidos possam ser mais facilmente adotados pelos pequenos agricultores e contribuir para melhoria da produtividade das culturas e a renda das famílias que vivem no campo.

A diversidade de componentes químicos e biológicos do biofertilizante torna-o um produto com múltiplas finalidades, podendo ser uma vantagem para quem deseja usar um produto em diversas culturas e sistemas de cultivos, mas pode também ser motivos de dúvidas e preocupação, quanto a sua eficiência de uso (aproveitamento) pelas plantas tratadas com o produto. A forma de preparo, assim como a grande quantidade de minerais adicionados nos biofertilizantes deve ser melhor avaliada. Por exemplo, a cal hidratada adicionada toda de uma vez no preparo do Supermagro (600 g/100 L) pode levar a eliminação de muitos

microrganismos benéficos, assim como transformações físico-químicas dos nutrientes e do pH do biofertilizante. Além disso, a quantidade de sulfato de zinco adicionada também deve ser diminuída. A alta concentração de zinco no biofertilizante pode diminuir disponibilidade de outros nutrientes e as plantas absorverem quantidade de zinco em excesso, causando fitotoxicidade. As plantas de feijoeiro apresentaram altos teores de zinco quando foram pulverizadas com biofertilizante enriquecido a 20%. Com base nisso, mais pesquisas são necessárias com objetivo de ajustar a concentração dos nutrientes do biofertilizante de acordo com as necessidades da planta.

4. CONCLUSÃO

De acordo com a proposta inicial do trabalho e a partir dos resultados obtidos, conclui-se que:

- os dois biofertilizantes apresentaram baixo poder de inibição da germinação de esporos de *P. griseola in vitro*, entre 20 e 25% de inibição dos esporos viáveis;
- a aplicação foliar de biofertilizante enriquecido, preventiva ou curativa, reduziu pouco a severidade e a AACPD do feijoeiro contra *P. griseola*, em câmara de nevoeiro e no campo. Entretanto, nessas condições, o biofertilizante comum aumentou a severidade e a AACPD, mas foi variável em função da concentração do biofertilizante;
- os teores foliares de nutrientes se correlacionaram pouco com a AACPD, apresentando-se bastante variáveis, em função do biofertilizante, da cultivar e do ambiente de cultivo. Maior correlação com a redução da doença no campo foi observado para o Ca, Fe e Mn com aplicação de biofertilizante enriquecido;
- os resultados mostram a necessidade de mais pesquisas para ajustar composição química do biofertilizante, principalmente com relação à quantidade de cal hidratada e de sulfato de zinco adicionados no preparo do biofertilizante enriquecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, L.R.; Durzo, M.P.; Liu, D.; Narasimhan, M.L.; Reuveni, M. et al. (1996). Antifungal activity of tobacco osmotin has specificity and involves plasma membrane permeabilization. *Plant Science*, v.118, p.11-23.
- Almeida, C.; Carvalho, M.A.C.; Arf, O.; Sá, M.E.; Buzetti, S. 2000. Uréia em cobertura e via foliar em feijoeiro. *Scientia Agricola*, v.57, n.2, p.293-298.
- Altieri, M. (2002) *Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável*. Guaíba, RS: Livraria e Editora Agropecuária, 592p.
- Alvarez-Puebla, R.A.; Valenzuela-Calahorro, C.; GARRIDO, J.J. (2004) Cu(II) retention on a humic substance. *Journal Colloid and Interface Science*, 270, p.47-55.
- Alves, S.B.; Medeiros, M.B.; Tomai, M.A.; Lopes, R.B. (2001) Trofobiose e microorganismos na proteção de plantas: biofertilizantes e entomopatógenos na citricultura orgânica. *Bioteχνologia Ciência e Desenvolvimento*, v.4, n.21, p.16-21.
- Ambrosano, E.J.; Wutke, E.B.; Ambrosano, G.M.B.; et al. (1996) Resposta da aplicação de micronutrientes no cultivo de feijão irrigado no inverno. *Scientia Agrícola*, v. 53 n. 2-3, p.338-342.
- Anderson, J.D., E Ingram, J.S.I. (1993) *Tropical Soil Biology and fertility: A handbook of methods*. 2ed Wallingford, UK CAB International, 171p.
- Assis, R. L.; Arezzo, D. C.; Almeida, D. L.; De-Polli, H. (1998) Aspectos Técnicos da Agricultura Orgânica Fluminense. *Revista Universidade Rural - Série Ciências da Vida*, Seropédica, v.20, n.1-2, p.1-16.
- Banzatto, D. A. & Kronka, S. N. (1995) *Experimentação agrícola*. 3.ed. Jaboticabal: Funep, 247p.
- Batista Júnior, C. B.; Albino, U. B.; Martines, A. M.; et al. (2002) Efeito fungistático de *Bacillus thuringiensis* e de outras bactérias sobre alguns fungos fitopatogênicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1189-11942.
- Bélanger, R.R.; Bowen, P.A.; Ehret, D.L.; Menzies, J.G.(1995) Soluble Silicon: Its Role in Crop and Disease Management of Greenhouse Crops. *Plant Disease*, v.79, n.4, p.329-35.
- Bestwick, C.S.; Adam, A.L.; Puri, N.; Mansfield, J.W. (2001) Characterization of and changes to pro- and anti-oxidant enzyme activities during the hypersensitive reaction in lettuce (*Lactuca sativa* L.) *Plant Science*, v.161, p.497-506.

- Bettiol, W.; Garibaldi, A.; Migheli, Q. (1997) *Bacillus subtilis* for the control of powdery mildew on cucumber and zucchini squash. *Bragantia*, v.56, n.2, p.281-287.
- Bettiol, W.; Kimati, H. (1990) Efeito de *Bacillus subtilis* sobre *Pyricularia oryzae* agente causal da brusone do arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.25, n.8, p.1165-1174.
- Bettiol, W.; Tratch, R.; Galvão, J.A.H. (1998) *Controle de doenças de plantas com biofertilizantes*. Jaguariúna: EMBRAPA, CNPMA, 1998, 22p. (EMBRAPA-CNPMA, Circular Técnica n.2)
- Boaretto, A. E., Daghlian, C., Muraoka, T. (1983) Absorção foliar e translocação de cálcio (^{45}Ca) pelo feijoeiro. *Científica*, São Paulo, 11: 227-231.
- Boaretto, A.E.; Rosolem, C.A. (1989) *Simpósio Brasileiro de Adubação Foliar 2.*, Campinas, 1987. **Anais...** Campinas. Fundação Cargill, 1989. 669p.
- Bonaldo, S.M.; Schwan-ESTRADA, K.R.F.; Stangarlin, J.R. et al. (2004) Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.2, p.128-134.
- Braga, J.M., Defelipo, B.V. (1974) Determinação espectrofotométrica do fósforo em extratores de solos e plantas. *Revista Ceres*, v.21, n.113, p.73-85.
- Buchholz, A.; Baur, P.; Schönherr, J. (1998) Differences among plant species in cuticular permeabilities and solute mobilities are not caused by differential selectivities. *Planta*, v.206, p.322-328.
- Bukovac, M.J., Rasmussen, H.P., Shull, V.E., (1981) The cuticle: surface structure and function. *Scanning Electron Microscopy*, v. 3, p.213-223.
- Burkhardt, J. & Schroth, G. (2000) Role of stomatal opening for the uptake of foliar fertilizers by tree crops in the humid tropics (Amazonia, Brazil) In: BLANKE, M. & POHLAN, J. (Eds.). Abstract: *II ISHS Conference on Fruit Production in the Tropics and Subtropics*. Acta Horticulturae 531, ISHS 2000, Bonn-Rottgen, Germany. [on-line] <http://www.actahort.org/books/531/index.htm> [acessado em 02/02/2004]
- Cakmak, I.; Marschner, M. (1988) Increase in membrane permeability and exudation of roots of zinc deficient plants. *Journal of Plant Physiology*, v.132. p.356-361.
- Camargo, P.N. & Silva, O. (1975) *Manual de adubação foliar*. São Paulo, Editora e Distribuidora Herba Ltda, 1975, 258p.
- Campanhola, C. & Valarini, P.J. (2001) A agricultura orgânica e seu potencial para o pequeno agricultor. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v.18, n.3, p.69-101.

- Campbell, C.L. & Madden, L.V. (1990) *Crop loss assessment and modeling*. In: Campbell, C.L. & Madden, L.V. Introduction to plant disease epidemiology. New York: Ed. John Wiley and sons, 1990. p.393-422.
- Carvalho, G.A.; Abreu, M.S.; Oliveira, D.F.; Resende, M.L.V.; Abreu, M.F.E. (2005) Efeito in vitro e in vivo de filtrados de rizobactérias sobre *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. do cafeeiro. *Ciência Agrotécnica*, v.29, n.3, p.553-561.
- Castro, A.M.C. & Boaretto, A.E. (2004) Adubação foliar do feijoeiro com nutrientes, vitamina B1 e metionina. *Scientia Agrária*, Brasília, DF, v.2.0, 27 10 2004. Disponível em: <http://calvados.c3sl.ufpr.br/agraria/viewarticle.php?id=49>>. Acesso em: 02 11 2005.
- Castro, C. (1999) Aspectos moleculares e bioquímicos de interações planta-patógeno. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v.7, p.299-368.
- Castro, C.M.; Santos, A.C.V.; Akiba, F. (1991) Comprovação in vitro da ação inibidora do biofertilizante “Vairo” produzido a partir da fermentação anaeróbica do esterco bovino, sobre a germinação de conídios de diversos gêneros de fungos fitopatogênicos. In: *Reunião Brasileira Sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas*, 4., 1991, Campinas. Anais... Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1991. p.18.
- Chaboussou, F. (1999) *Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos. A Teoria da Trofobiose*. 2a Ed. Traduzida para o português. Porto Alegre: L&MP, 256p.
- Chamel, A. & Gambonnet, B. (1982) Foliar penetration of micronutrients: study with isolated pear leaf cuticles of cuticular retention and penetration of zinc. *ISHS Acta Horticulturae 92: Symposium on Mineral Nutrition and Fruit Quality of Temperate Zone Fruit Trees*. [Acesso em 10/01/2006] site http://www.actahort.org/books/92/92_50.htm
- Chérif, M.; Bélanger, R.R. (1992) Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Phythium ultimum* on long English cucumber. *Plant Disease*, v.76, p.1008-1011.
- Coelho, R.R. (1999) *Condições Climáticas que favorecem o desenvolvimento da ferrugem (Uromyces appendiculatus) e da mancha angular (Phaeoisariopsis griseola) do feijoeiro*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), 72p.
- CONAB (2003) *Companhia Nacional de Abastecimento*. Disponível na Web: www.conab.gov.br/ [acessado em 10/05/2003]
- Cross, J. (1987) Metal ion complexes of polyoxyethylene chains, pp.31-75. In: Cross, J. (ed.) *Non-ionic surfactants*. Decker, New York, USA.
- Csinos, A. S.; GAINES, T. P. & WALKER, M. E. (1984) Involvement of nutrition and fungi in the peanut pot rot complex. *Plant Disease*, 68:61-65.

- Csizinszky, A.A. (1984) Response of tomatoes to seaweed based nutrient sprays. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, v. 97, p. 151- 157.
- Csizinszky, A.A. (1986) Response of tomatoes to foliar biostimulant sprays. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, v. 99, p.353-358. *In.:* DEVINE, M. D.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. 1993. *Physiology of herbicide action*. London: Prentice Hall International, 441p.
- Datnoff, L.E.; Raid, R.N.; Snyder, G.H.; Jones, D.B. (1991) Effect of calcium silicate on blast and brown spot intensities and yields of rice. *Plant Disease*, v.75, p.729-732.
- Deffune, G. (2001) Fitoalexinas e resistência sistêmica vegetal: uma explicação para os defensivos naturais. *Agroecologia*, v.1, n.6, p.6-8.
- Deleito, C.S.R. (2002) *O biofertilizante Agrobio: composição microbiana e efeito sobre a mancha bacteriana do pimentão*. Dissertação (Mestrado em fitotecnia), Seropédica, RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 95p.
- Deleito, C.S.R.; Carmo, M.G.F. ; Fernandes, M.C.A. ; Abboud, A. C. S. (2005) Ação de Biofertilizante Agrobio sobre a Mancha-Bacteriana e Desenvolvimento de Mudanças de Pimentão. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 23, p.117-122.
- De-Polli, H., Almeida, D. L. et al. (1988) *Manual de adubação para o Rio de Janeiro*. Itaguaí, RJ (Coleção Universidade Rural. Ciências Agrárias, n.02), Editora Universidade Rural, 179p.
- Dias, P.F.; Souto, S.M.; Leal, M.A.A.; Schmidt, L.T. (2003) Efeito do biofertilizante líquido na produtividade e qualidade da alfafa (*Medicago Sativa L.*), no município de Seropédica-RJ. *Agronomia*, v.37, n.1, p.16-22.
- Duarte Júnior, J.B. (2002) *Aplicação foliar de Agrobio® e molibdênio em dois cultivares de feijoeiro comum*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Campos dos Goytacazes, RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 68p.
- Duenhas, L.E. (2004) *Cultivo orgânico de feijão: aplicação de esterco e de biofertilizantes e substâncias húmicas via fertirrigação*. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem), Piracicaba, SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 73p.
- Duffy, B.K. & Défago, G. (1999) Macro-and microelement fertilizers influence the severity of Fusarium crown and root rot of tomato in soilless production system. *Hortscience*, v.34, n.2, p.287-291.
- Eichert, T.; Burkhardt, J. (2001) Quantification of stomatal uptake of ionic solutes using a new model system. *Journal of Experimental Botany*, v.52: p.771-781.

- Eichert, T.; Burkhardt, J.; Goldbach, H.E. (2002) Some factors controlling stomatal uptake. In: Tagliavini, M.; Toselli, M.; Bertschinger, L.; Brown, P.; Neilsen, D.; Thalheimer, M. (Eds.). *International Symposium on Foliar Nutrition of Perennial Fruit Plants*. Acta Horticulturae 594, ISHS 2002, Merano, Italy. p.85-90.
- Elad, Y.; Shtienberg, D. (1994) Effect of compost water extracts on grey mould (*Botrytis cinerea*). *Crop Protection*, Oxford, v.13, n.2, p.109-114.
- Ellet, C.W. (1973) Soil Fertility and Disease Development. *Better Crops With Plant Food*, v.57, p.6-8.
- Epstein, E. (1999) Silicon. *Annual Review Plant Physiology and Molecular Biology*, v.50, p.641-664.
- Façanha, A.R.; Façanha, A.L.O.; Olivares, F.L.; Guridi, F. et al. (2002) Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 9, p.1301-1310.
- Fageria, N.K. (2002) Influence of micronutrients on dry matter yield and interaction with other nutrients in annual crops. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 12, p. 1765-1772.
- Faleiro, F.G., Nietsche, S., Ragagnin, V.A., Borém, A., Moreira, M.A. & Barros, E.G. (2001) Resistência de cultivares de feijoeiro comum à ferrugem e à mancha-angular em condições de casa de vegetação. *Brasileira*, v.26, p.86-89.
- Fernandes, M. C. de A. (2000) O Biofertilizante Agrobio. Série Agricultura Orgânica. *A Lavoura*. Rio de Janeiro, n.634, p.42-43.
- Fernandes, M.C.A. (2003) Defensivos Alternativos. Ferramenta para uma agricultura ecológica não poluente, produtora de alimentos saudáveis. CREA – RJ, 14p. Disponível no site www.crea-rj.org.br.
- Fernandez, V.; Araújo, M.C.; Araújo, M.L.; Almeida, M.A. (2001) Evaluación del biofertilizante Agrobio en el cultivo de lechuga en sistema protegido. *Libro Resumen del IV ENCUENTRO DE AGRICULTURA ORGANICA*, ACTAF, p.191-192.
- Ferreira, G.S. (1997) *Efeito da calda Viçosa na nutrição do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) e no controle da Mancha angular (Phaeoisariopsis griseola (Sacc.) Ferraris).*,. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa, 46p.
- Florence, T.M.; Morrison, G.M.; Stauber, J.L. (1992) Determination of trace elements speciation and role of speciation in aquatic toxicity. *Science of The Total Environment*, v.125, p.1-13.

- Fontes, R.L.F.; Dallpai, D.L.; Braga, J.M.; Alvarez, V.H.A. (2000) Determination of molybdenum in soil extracts with potassium iodide plus hydrogen peroxide reaction. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, v.31, p.2671-2683.
- Francelli, A L. C. & Dourado Neto, D. (1997) *Tecnologia da produção de feijão irrigado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. 158p.
- Francis, D. G. (1994) *Family Agriculture: Tradition and Transformation*, Londres: Earthscan, 1994.
- Galbiatti, J.A.; Garcia, A.; Silva, M.L.O.; Mastrocola, M.A.; Caldeira, D.S.A. (1996) Efeito de diferentes doses e épocas de aplicação de efluente de biodigestor e da adubação mineral em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) submetido a duas lâminas de água por meio de irrigação por sulco. *Científica*, v.24, n.1, p.63-74.
- Gangopadhyay, S.; Chattopadhyay, S.B. (1975) Total de silica and brown spot disease development of rice under varying levels of nitrogen. *Current Science*, v.44, n.3, p. 92-94.
- Godoy, C. V., Carneiro, S. M. T. P. G., Iamauti, M., et al. (1997) Diagramatic scales for bean diseases: development and validation. *Journal of plant diseases and protection*, German, v.104, n.4, p.336-345.
- Graham, R.D.; Webb, M.J. (1991) Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. In: Mortvedt, J.J.; Cox, F.R.; Shuman, L.M.; Welch, R.M. (eds), *Micronutrients in Agriculture*, 2ed. Soil Science Society of America. p.329- 370.
- Graham, T. L. & Graham, M. Y. (1999) Role of hypersensitive cell death in conditioning elicitation competency and defense potentiation. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.55, p.13-20.
- Hammer-Schmidt, R. (1999) Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.55, p.77-84.
- Hammer-Schmidt, R.; Becker, J.S. (1997) Acquired resistance to disease. *Horticultural Reviews*, v.18, n.2, p.247-289.
- Hoagland, D.R. & Arnon, D.I. (1950) *The water - culture method for growing plants without soil*. Berkeley. University of California.
- Horst, R.K.; Kawamoto, S.O.; Porte, L.L. (1992) Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Disease*, v.76, p.247-251.
- Huber, D.M. (1980) The role of mineral nutrition in defense. In :Horstall, J.G. & Cowling, E.B.(eds). *Plant disease an advanced treatise*, v.5. Academic Press Inc, ed. 1980. p.381-406.

- Huber, D.M.(1996) Management of nutrition to control plant pathogens. *Anais do X Congresso Nacional Agronomico e III Congresso de Fitopatologia, Botany & Plant Pathology*, Purdue University, 2p.
- Huber, D.M.; ARNY, D.C. (1985) Interactions of potassium with plant disease. In: MUNSON, R.D. (Ed.). *Potassium in Agriculture*, Madison: ASA, CSSA and SSA,. p.467-488.
- IBGE (2004) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Senso Agropecuário, 1996*. Disponível na World Wide Web: <http://www.ibge.gov.br/> [acessado em 01/12/2004]
- Iriti, M. & FAORO, F. (2003) Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. *Journal of Phytopathology*, v.151, p.171–180.
- Jackson, M.L. (1965) Nitrogen determinations for soil and plant tissue. In: Jackson, M.I.(Ed.). *Soil Chemical Analysis*. Ertlewood Chiffis: Pretince Hall, p.195-196.
- Jenks, M.A.; Ashworth, E.N. (2003) Plant epicuticular waxes: function, production, and genetics. *Horticultural Reviews*, v. 23, p.1-68.
- Jesus Junior, W.C. (2001) Effects of angular leaf spot and rust on plant growth and yield of *Phaseolus vulgaris*. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Viçosa - MG, Universidade Federal de Viçosa, 96p.
- Jones JR., J.B., Wolf, B., Mills, H.A. (1991) *Plant Analysis Handbook: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Athens (USA): Micro-Macro Publishing, 213p.
- Juniper, B.E. & Cox, G.E. (1973) The anatomy of the leaf surface: the first line of defense. *Pesticide Science.*, v.4, p. 543-561.
- Keen, N.T. & Yoshikawa, M. (1983) α -1,3-Endoglucanase from soybean releases elicitor-active carbohydrates from fungus cell walls. *Plant Physiology*, v.71, p. 460–465.
- Kessmann, H.; Staub, T.; Hofmann, C.; et al. (1994) Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology*, v.32, p.439-459.
- Korndörfer, G.H.; Datnoff, L.E. (1995) Adubação com silício: uma alternativa no controle de doenças da cana-de-açúcar e do arroz. *Informações Agrônomicas*, POTAFOS, n.70, p.1-3.
- Kovats, K.; Binder, A.; Hohl, H.R.(1991) Cytology of induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Planta*, v.183, p.484-490.

- Lamb, C. & Dixon, R.A. (1997) The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, v.48, p.251-275.
- Lele, U. (1998) Strategic Implications of Sustainable Family Farm Agricultural Development in Brazil. Trabalho apresentado no 36º Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural, Poços de Caldas, MG: 10 -14 agosto, 1998.
- Levy, Y. & Horesh, I. (1984) Importance of penetration through stomata in the correction of chlorosis with iron salts and low-surfacetension surfactants. *Journal Plant Nutrition*, v. 7, p. 279-281.
- Lidster, P.D.; Tung, M.A.; Yada, R.G. (1979) Effects of preharvest and postharvest calcium treatments on fruit calcium content and the susceptibility of Van cherry to impact damage. *Journal American Society Horticulture Science*, v.104, p.790-793.
- Lima Filho, O.C.; Lima, M.T.G.; Tsai, S.M. (1999) Supressão de patógenos em solos induzida por agentes abióticos: o caso do silício. *Informações Agrônomicas* (Encarte técnico), n.87, p.8-12.
- Lima Filho, O.F.; Lima, M.T.G.; Tsai, S.M. (1998) Silício pode aumentar a resistência de plantas a doenças. Grupo de Estudos "Luiz de Queiroz", *Boletim Informativo*, n.2, p.10-11.
- Magro, D. (1994) *Supermagro: a receita completa*. São Paulo: Associação de Agricultura Orgânica, 1994, 5p. (Associação de Agricultura Orgânica: Boletim, 16).
- Malavolta, E, Vitti, G.C., Oliveira, S.A. (1997) *Avaliação do estado nutricional das plantas*. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 319p.
- Maringoni, A.C. (2003) Alterações nos teores de macronutrientes em plantas de feijoeiro infectadas por *Curtobacterium flaccumfaciens* PV. *Flaccumfaciens*. Comunicação. *Ciência Agrotécnica*, v.27, n.1, p.217-222.
- Marschner, H. (1995) *Mineral nutrition of higher plants*. 2.ed. London: Academic Press, 1995. 889p.
- Matiello, J.B. & Almeida, S.R.(1997) Controle associado de doenças do cafeeiro. *Correio Agrícola* v.2, p.25-27.
- Mauch, F.; Hadwiger, L.A.; Boller, T. (1984) Ethylene: symptom, not signal for the induction of chitinase and β -1,3-glucanase in pea pods by pathogens and elicitors. *Plant Physiology*, v.76, p.607-611.
- Mauch-Mani, B. & Métraux, J.P. (1998) Salicylic Acid and Systemic Acquired Resistance to Pathogen Attack. *Annals of Botany Company*, v. 82, p.535-540.

- Mcquillen, M.P.; Whipps, J.M.; LYNCH, J.M. (1994) Effects of water extracts of a composted manure-straw mixture on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Oxford, v.10, n.1, p.20-26.
- Medeiros, M.B. (2002) *Ação de biofertilizantes líquidos sobre a bioecologia do ácaro Brevipalpus phoenicis*. Tese (Doutorado), Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 110p.
- Medeiros, M.B.; Vanderley, P.A.; Vanderley, M.J.A. (2003) Biofertilizantes Líquidos: processo trofobiótico para proteção de plantas em cultivos orgânicos. *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, Edição n. 31, p.38-44.
- Mengel, K. (2002) Alternative or complementary role of foliar supply in mineral nutrition. In: Tagliavini, M.; Toselli, M.; Bertschinger, L.; Brown, P.; Nielsen, D.; Thalheimer, M. (Eds.). *International Symposium on Foliar Nutrition of Perennial Fruit Plants*. Acta Horticulturae 594, ISHS 2002, Merano, Italy. p.33-48.
- Menzies, J.G.; Ehret, D.L.; Glass, A.D.M.; Helmer, T.; Koch, C.; Seywerd, F. (1991) Effects of silicon soluble on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Phytopathology*, v.81, p.84-88.
- Miguel, A.E., Mask, Z., Matiello, J.B. & Almeida, S.R. Efeito de fungicidas no controle de *Cercospora coffeicola* em frutos de café. *Anais do III Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras*, Curitiba, PR. 1975. pp.18-21.
- Mischan, M. M., Pinho, S. Z. (1984) Uma generalização da formula para obtenção dos polinômios ortogonais quando a variável independente não é igualmente espaçada. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.36, n.6, p.998-1002.
- Mpabansi, A. 1998. *Effect of various foliar fertilizer formulations on growth and yield of Phaseolus vulgaris L. suffering from insufficient root supply of nitrogen, magnesium and micronutrients*. Thesis (Doctor "scientiarum agrariarum"), Berlin, Germany: Humboldt-University to Berlin, 204p. Acesso em: 02/11/2005 [<http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/mpabansi-antoine-1999-01-21/>]
- Nardi, S.; Pizzeghello, D.; Muscolo, A.; Vianello, A. (2002) Physiological effects of humic substances on higher plants. Review article. *Soil Biology and Biochemistry*, v.34, n.11, p.1527-1536.
- Naseri, L.; Arzani, K; Balazar, M. (2002) Foliar boron, copper and manganese uptake and concentrations of apple leaves cv. Golden Delicious on M9 and B9 rootstocks. In: Tagliavini, M.; Toselli, M.; Bertschinger, L.; Brown, P.; Nielsen, D.; Thalheimer, M. (Eds.). *International Symposium on Foliar Nutrition of Perennial Fruit Plants*. Acta Horticulturae 594, ISHS 2002, Merano, Italy. p.237-243.
- Naseri, L.; Arzani, K; Balazar, M. (2002) Foliar boron, copper and manganese uptake and concentrations of apple leaves cv. Golden Delicious on M9 and

- B9 rootstocks. In: Tagliavini, M.; Toselli, M.; Bertschinger, L.; Brown, P.; Neilsen, D.; Thalheimer, M. (Eds.). *International Symposium on Foliar Nutrition of Perennial Fruit Plants*. Acta Horticulturae 594, ISHS 2002, Merano, Italy. p.237-243.
- Niderman, T.; Genetet, I.; Bruy`Ere, T.; Gees, R.; Stintzi, A., et al. (1995) Pathogenesis related PR-1 proteins are antifungal. *Plant Physiology*, v.108, p.17–27.
- Niederl, S.; Kirsch, T.; Riederer, M.; Schreiber, L. (1998) Co-permeability of 3H-labelled water and 14C-labelled organic acids across isolated plant cuticles: investigating cuticular paths of diffusion and predicting cuticular transpiration. *Plant Physiology*, v.116, p.117-123.
- Nietsche, S.; Carvalho, G.A.; Borém, A.; et al. (1997) Avaliação de fontes de resistência de feijão à mancha-angular (*Phaeoisariopsis griseola*). *Fitopatologia Brasileira* v.22, p.290.
- Nogueira, M.C.S. (2004) Orthogonal contrasts: definitions and concepts. Review, *Scientia Agricola*, v.61, n.1, p.118-124.
- Nunes, W. (2002) Relação entre a nutrição mineral e doenças do feijoeiro irrigado no entorno do Distrito federal. *Anais do Workshop Relação entre nutrição de plantas e incidência de doenças*. Piracicaba: Potafós, 08 e 09 de maio de 2002, Palestra. Disponível em: www.potafos.com (Acesso em 20 de abril de 2005).
- Oliveira, I.P.; Soares, J.A.A.; Estrela, M.F.C.; et al. (1986) *Resultados técnicos e econômicos na aplicação de biofertilizante bovino nas culturas de feijão, arroz e trigo*. EMBRAPA-CNPAP, Goiânia (Circular Técnica 21), 24p.
- Parker, D.R.; Norvell, W.A.; Chaney, R.L. (1995) GEOCHEM-PC: A chemical speciation program for IBM and compatible personal computers. p. 253–269. In R.H. Loeppert et al. (ed.) *Chemical equilibrium and reaction models*. SSSA Spec. Publ. 42. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Pastor-Corrales, M. A. & Jara, C. E. (1995) La evolucion de *Phaeoisariopsis griseola* com el frijol comum em América Latina. *Fitopatologia Colombiana*, v.19, p.15-22.
- Paula Júnior, T.J. & Zambolim, L. (1998) Doenças. In: VIEIRA, C., PAULA JÚNIOR, T.J. & BORÉM, A. (Eds.) *Feijão: Aspectos gerais e cultura no Estado de Minas*. Viçosa. Editora UFV. 1998. pp. 375-433.
- Pereira, H.S; Mello, S.C. (2002) Aplicações de fertilizantes foliares na nutrição e na produção do pimentão e do tomateiro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 4, p.597-600.
- Perrenoud, S. (1990) *Potassium and Plant Health*. 2 ed. Berne, International Potash Institute, 1990. 363p.

- Pessoa, A. C. dos S. (1998) *Atividades de nitrogenase e redutase do nitrato e produtividade do feijoeiro em resposta à adubação com molibdênio e fósforo*. Tese (Doutorado em Solos), Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa, 151p.
- Polidoro, J. C. (2001) *O molibdênio na nutrição nitrogenada e na contribuição da fixação biológica do nitrogênio associada à cultura da cana-de-açúcar*. Tese (Doutorado em Ciências do Solo), Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 185p.
- Pozza, A.A.A.; Martinez, H.E.P.; Pozza, E.A.; Caixeta, S.L.; Zambolim, L. (2000) Intensidade da mancha de olho pardo em mudas de cafeeiro em função de doses de N e de K em solução nutritiva. *Summa Phytopathologica*, v.26, p.29-33.
- Pozza, E.A. & Pozza, A.A. (2003) Manejo de doenças de plantas com macro e micronutrientes. *Fitopatologia Brasileira*, v.28 (suplemento, 52), 3p.
- Primavesi, O. (1981) Resultados com nitrofoska foliar em diversas culturas no Brasil. In: BOARETTO, A.E.; ROSOLEM, C.A.(coord.). *Anais do 1º Simpósio de Adubação Foliar*, Botucatu, FEPAF, 1981, p.73-95.
- Reed, D.W. & Tukey, J.R. (1978) Effect of pH on foliar absorption of phosphorus compounds by chrysanthemum. *Journal American Society Horticulture Science*, v.103, p.337-340.
- Reuveni, M.; Agapov, V.; Reuveni, R. (1995) Suppression of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by foliar sprays of phosphate and potassium salts. *Plant Pathology*, v.44, n.1, p.31-39.
- Riederer, M. & Schreiber, L. (1995) Waxes: The transport barriers of plant cuticles. In: Hamilton R.J. (ed.) *Waxes: Chemistry, molecular biology and functions*. The oily Press, Dundee, Scotland, pp. 131-156.
- Rocha, M.C.; Silva, A.L.B.; Almeida, A.; Collad, F.H. (2001) Efeito do uso de biofertilizante agrobio sobre as características físico-químicas na pós-colheita do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* deg.) no município de Taubaté. Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté, *Revista Biociências*, v.7, n.2, 7p. Acessado em 25/07/2003 [<http://www.unitau.br/prppg/publica/biocienc/downloads/>]
- Rosolem, C.A. (2002) *Recomendação e aplicação de nutrientes via foliar*. Lavras: UFLA/FAEPE, 99p.
- Roy, B.A.; Kirchner, J.W. (2000) Evolutionary dynamics of pathogen resistance and tolerance. *Evolution*, v.54,n.1, p.51-63.
- Samuels, A.L.; Glass, A.D.M.; Menzies, J.G.; Ehret, D.L. (1994) Silicon in cell walls and papillae of *Cucumis sativus* during infection by *Sphaerotheca fuliginea*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.44, p.237-42.

- Santos, A.C. & Akiba, F. (1996) *Biofertilizante líquido: uso correta na agricultura alternativa*. UFRuralRJ, Imprensa Universitária, 35p.
- Santos, A.C.V. (1992) *Biofertilizante líquido: o defensivo agrícola da natureza*. 2. ed. ver. Niterói: EMATER-RIO, (Agropecuária Fluminense, 8), 16p.
- Sartorato, A. & Rava, C. A. (1992) Influência da cultivar e do número de inoculações na severidade da mancha angular (*Isariopsis griseola*) e nas perdas na produção do feijoeiro comum. *Fitopatologia Brasileira*, v17, n.3, p.247-251.
- Sartorato, A. (2002) Identification of *Phaeoisariopsis griseola* pathotypes from five States in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, v.27, n.1, p.78-81.
- Sartorato, A.; Rava, C. A. (1994) *Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle*. Brasília: Embrapa-SPI. (Embrapa-CNPAP. Documentos, 50), 300 p.
- Savant, N.K.; Korndörfer, G.H.; Datnoff, L.E.; Snyder, G.H. (1999) Silicon nutrition and sugarcane production: A review. *Journal of Plant Nutrition*, v.22, n.12, p.1853-1903.
- Schlegel, T.K. & Schönherr, J. (2002) Selective permeability of cuticles over stomata and trichomes to calcium chloride. In: Tagliavini, M.; Toselli, M.; Bertschinger, L.; Brown, P.; Neilsen, D.; Thalheimer, M. (Eds.). *International Symposium on Foliar Nutrition of Perennial Fruit Plants*. Acta Horticulturae 594, ISHS 2002, Merano, Italy. p.91-96.
- Schönherr, J. (1976) Water permeability of isolated cuticular membranes: The effect of pH and cations on diffusion, hydrodynamic permeability and size of polar pores. *Planta*, v.128, p.113-126.
- Schönherr, J. (2000) Calcium chloride penetrates plant cuticles via aqueous pores. *Planta*, v.212, p.112-118.
- Schönherr, J. (2001) Cuticular penetration of calcium salts: effects of humidity, anions and adjuvants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v.164: 225-231.
- Schönherr, J. (2002a) A mechanistic analysis of penetration of glyphosate salts across stomatous cuticular membranes. *Pest Management Science*, v.58, p.343-351.
- Schönherr, J. (2002b) Foliar Nutrition Using Inorganic Salts: Laws of Cuticular Penetration. In: Tagliavini, M.; Toselli, M.; Bertschinger, L.; Brown, P.; Neilsen, D.; Thalheimer, M. (Eds.). *International Symposium on Foliar Nutrition of Perennial Fruit Plants*. Acta Horticulturae 594, ISHS 2002, Merano, Italy. p.77-84.
- Schönherr, J & Luber, M. (2001) Cuticular penetration of potassium salts: Effects of humidity, anions, and temperature. *Plant and Soil*, v. 236, p.117-122.

- Schönherr, J. & Baur, P. (1996) The effect of temperature, surfactants and other adjuvants on rates of uptake of organic compounds. G Kerstiens (ed.). In.: *Plant cuticles: an integrated functional approach*. BIOS Scientific Publ. Oxford, p. 134-154.
- Schönherr, J. & Bukovac, M.J. (1972) Penetration of stomata by liquids. Dependence on surface tension, wettability and stomatal morphology. *Plant Physiology*, v.49, p.813-819.
- Schönherr, J. & Bukovac, M.J. (1978) Foliar Penetration of succinic acid 2,2-dimethylhydrazide: mechanism and rate limiting step. *Plant Physiology*, v. 42, p.243-251.
- Schönherr, J. & Huber, R. (1977) Plants cuticles are polyelectrolytes with isoelectric points around three. *Plant Physiology*, v.59, p.145-151.
- Schönherr, J. & Riederer, M. (1989) Foliar penetration and accumulation of organic chemicals in plant cuticles. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, v.108, p.1-70.
- Schönherr, J. & Schreiber, L. (2004) Size selectivity of aqueous pores in stomatous cuticular membranes isolated from *Populus canescens* (Aiton) Sm leaves. *Planta*, v.219, p.405-411.
- Schreiber, L. (2005) Polar paths of diffusion across plant cuticles: new evidence for an old hypothesis. Botanical Briefing. *Annals of Botany*, v. 95, p.1069-1073.
- Silveira, R.L.V.A.; Muniz, M.R.A.; Silva, C.R.; Camargo, F.R.A. (2003) *Aspectos nutricionais envolvidos na ocorrência de doenças com ênfase para a ferrugem (Puccinia psidii) do eucalipto*. Divulgação Técnica, 19p. Disponível na World Wide Web: <http://www.rragroflorestal.com.br/divulgacao.html>. [acessado em 28/06/2003]
- Silveira, G.A. (1967) *Evaluación de la resistencia de frijol a la mancha angular: algunos aspectos fisiológicos de Isariopsis griseola Sacc. y patogenicidad de algunas cepas colectadas en Costa Rica*. Thesis (MS en la agronomía). Turrialba, Costa Rica, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas da OEA.
- Souza Filho, B.F.; Andrade, W.E.B.; Fernandes, G.M.B.; Santos, J.G.C. (2001) *Efeito da incidência de doenças no rendimento do feijoeiro no Norte Fluminense*. PESAGRO-RIO. Niterói-RJ, (Comunicado Técnico 255), 3p.
- Souza, J.L. (2000) Nutrição orgânica com biofertilizantes foliares na cultura do pimentão em sistema orgânico. *Horticultura Brasileira, Brasília*, v. 18, p. 828-929, 2000 (Suplemento).
- Stangarlin, J.R. (1999) *Atividades de Ribulose-1,5-Bifosfato Carboxilase (Rubisco), Clorofilase, 1,3 Glucanase e Quitinase e conteúdo de clorofila*

- em cultivares de feijoeiro (Phaseolus vulgaris) infectados com Uromyces appendiculatus ou Phaeoiscriopsis griseola.* Tese (Doutorado em Fitopatologia), Presidente Prudente–SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 119p.
- Stein, B.D.; Klomparens, K.L.; Hammerschmidt, R. (1993) Histochemistry and ultrastructure of the induced resistance response of cucumber plants to *Colletotrichum lagenarium*. *Journal of Phytopathology*, v.137, p.177-188.
- Stell, R.G.D. & Torrie, J.H. (1997) *Principles and procedures of statistics*. New York: McGraw-Hill Book, 633p.
- Sticher, L.; Mauch-Mani, B.; Metraux, J.P. (1997) Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, v.35, p.235-270.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2004) *Fisiologia Vegetal*. Tradução. 3^o ed. Editora ArtMed, Porto Alegre, RS, 2004, 720p.
- Tanaka, M.T. (2001) *Aplicação de biofertilizantes e bioestimulantes na cultura de tomate (Lycopersicon esculentum Mill)*. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá, 44p.
- Tratch, R. (1996) *Efeito de biofertilizantes sobre fungos fitopatogênicos*. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas), Botucatu-SP, Universidade Estadual Paulista, 60p.
- Tratch, R.; Bettiol, W.(1997) Efeito de biofertilizantes sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos patogênicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.32, n.11, p.1131-1139.
- Trés, F. & Resende, S.A. (1995) *Supermagro SM: biofertilizante enriquecido*. Niterói: EMATER-RIO, 11p.
- Uhlig, B. & Wissemeier, A.H. (2000) Reduction in non-ionic surfactant phytotoxicity by divalent cations. *Crop Protection*, v. 19, p. 13-19.
- Van Loon, L.C.; Bakker, P. A. H. M.; Pieterse, C. M. J. (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, v.36, p.453-483.
- Vettori, I. (1969) *Métodos de análises de solo*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Boletim Técnico, 24p.
- Vida, J.B.; Brandão Filho, J.U.T.; Vasconcelos, M.A.S.; Nunes, W.M.C. (1993) Efeito do efluente de biodigestor no controle de oídio em feijão vagem cultivado em estufa plástica. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.18, p.264.
- Vieira, C. (1998) *Cultura do feijoeiro*. Viçosa, MG: Imprensa Universtária - Univeresidade Federal de Viçosa UFV, 146 p.

- Vieira, C.; Paula JR., T.J.; Borem, A. (1998) (eds) *Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas*. Viçosa: UFV, 1998. 596p.
- Vilella Júnior, L.V.E.; Araújo, J.A.C.; Factor, T.L. (2003) Estudo da utilização de efluente de biodigestor no cultivo hidropônico do meloeiro. *Revista de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, PB, v.7, n.1, p.72-79. Disponível URL: <http://www.agriambi.com.br>.
- Vitti, G.C.; Oliveira, F.A.; Prata, F.; Oliveira Jr., J.A.; Ferragine, M.C. Silveira, R.L.V.A. (1997). *Silício no solo e na planta*. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 90p.
- Volk, R.J.; Kahn, R.P.; Wintraub, R.L. (1958). Silicon content of the rice plant as a factor influencing its resistance to infection by the blast fungus, *Piricularia oryzae*. *Phytopathology*, v.48, n.4, p.179-84.
- Yassim, N. (2001) Análise de experimentos fatoriais de dois fatores com tratamentos adicionais. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agropecuária), Lavras-MG, Universidade Federal de Lavras, 161p.
- Zambolim, L. & Ventura, J. A. (1993) Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. *RAAP*, 1:275-318.
- Zavaleta Mejia, E. (1999) Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra*, v.17, n.3, p.201-207.
- Ziv, O. & Hagiladi, A. (1993) Controlling powdery mildew in *Euonymus* with polymer coatings and bicarbonate solutions. *HortSci*, v.28, p.124-126.
- Ziv, O. & Zitter, T.A. (1992) Effect of carbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar disease. *Plant Disease*, v.76, p.513-517.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Especiação química das formulações e soluções nutrientes do Capítulo I

PROCEDIMENTO: GEOCHEM-PC Version 2.0 (Parker et al (1995))

Date: 11-25-2004 Time: 18:22 a 19:48

QUADRO A1) TRATAMENTO T1 (5%)

These computations involve 9 metals, 7 ligands, 76 complexes, and 43 possible solids.

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMEBER 1

Nutrient	Tot.Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 1.242E-02 (computed)
Ca	3.443E-03	3.353E-03	Fixed pH = 5.400
Mg	1.028E-03	1.009E-03	
K	1.227E-03	1.226E-03	The solution contains 1.345E-02 equivalents per liter of cationic species, -1.788E-03 eq/L of anionic species, and thus has a computed net charge of 1.167E-02 eq/L. This represents an error qual to 86.71 percent of the total charge of cationic species in solution.
Na	2.642E-04	2.638E-04	
Fe +2	1.611E-04	1.424E-04	
Mn +2	1.274E-05	1.245E-05	
Cu +2	6.295E-06	5.991E-06	
Zn	1.225E-05	1.178E-05	
SO4	3.428E-04	2.541E-04	
Cl	9.750E-04	9.737E-04	
PO4	3.388E-04	1.274E-12	
NH3	2.858E-03	6.405E-07	
B(OH)4	3.935E-05	7.007E-09	
MoO4	3.177E-09	3.008E-09	

Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	97.38 % as a free metal 1.97 % complexed with SO4 .65 % complexed with PO4	SO4	74.14 % as a free ligand 19.75 % complexed with Ca 4.72 % complexed with Mg .46 % complexed with K .06 % complexed with Na .67 % complexed with Fe +2 .07 % complexed with Mn +2 .04 % complexed with Cu +2 .07 % complexed with Zn .02 % complexed with H+
Mg	98.14 % as a free metal 1.57 % complexed with SO4 .06 % complexed with Cl .23 % complexed with PO4	Cl	99.87 % as a free ligand .02 % complexed with Ca .06 % complexed with Mg .02 % complexed with K .02 % complexed with Na
K	99.86 % as a free metal .13 % complexed with SO4 .02 % complexed with Cl	PO4	6.57 % complexed with Ca .69 % complexed with Mg 4.83 % complexed with Fe +2 .02 % complexed with Cu +2 .05 % complexed with Zn 87.84 % complexed with H+
Na	99.84 % as a free metal .08 % complexed with SO4 .08 % complexed with Cl	NH3	.02 % as a free ligand 99.98 % complexed with H+
Fe +2	88.42 % as a free metal 1.42 % complexed with SO4 10.16 % complexed with PO4	B(OH)4	.02 % as a free ligand 99.98 % complexed with H+
Mn +2	97.79 % as a free metal 1.97 % complexed with SO4 .24 % complexed with Cl	MoO4	94.68 % as a free ligand 5.32 % complexed with H+
Cu +2	95.17 % as a free metal 2.42 % complexed with SO4 .15 % complexed with Cl 1.26 % complexed with PO4 .61 % complexed with NH3 .40 % complexed with OH-		
Zn	96.22 % as a free metal		

1.94 % complexed with SO4
 .15 % complexed with Cl
 1.35 % complexed with PO4
 .34 % complexed with OH-

QUADRO A2) TRATAMENTO T1 (20%)

These computations involve 9 metals, 7 ligands, 76 complexes, and 43 possible solids.

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMEBER 1

Nutrient	Tot.Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 4.769E-02 (computed)			
Ca	1.377E-02	1.316E-02	Fixed pH = 5.400			
Mg	4.111E-03	3.982E-03				
K	4.909E-03	4.892E-03				
Na	1.057E-03	1.052E-03	Solid	Number	mol/L of solution	
Fe +2	6.442E-04	1.927E-04	Fe +2	PO4	1	1.337E-04
Mn +2	5.093E-05	4.895E-05	Cu +2	PO4	2	1.542E-07
Cu +2	2.518E-05	2.247E-05	The solution contains 5.246E-02 equivalents per liter of cationic species, -6.373E-03 eq/L of anionic species, and thus has a computed net charge of 4.609E-02 eq/L. This represents an error equal to 87.85 percent of the total charge of cationic species in solution.			
Zn	4.898E-05	4.585E-05				
SO4	1.371E-03	8.007E-04				
Cl	3.899E-03	3.884E-03				
PO4	1.355E-03	6.879E-12				
NH3	1.143E-02	2.363E-06				
B(OH)4	1.574E-04	3.038E-08				
MoO4	1.271E-08	1.217E-08				

Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	95.52 % as a free metal	SO4	58.41 % as a free ligand
	3.19 % complexed with SO4		32.03 % complexed with Ca
	.02 % complexed with Cl		7.70 % complexed with Mg
	1.27 % complexed with PO4		1.04 % complexed with K
Mg	96.86 % as a free metal		.14 % complexed with Na
	2.57 % complexed with SO4		.37 % complexed with Fe +2
	.16 % complexed with Cl		.12 % complexed with Mn +2
	.41 % complexed with PO4		.07 % complexed with Cu +2
K	99.66 % as a free metal		.11 % complexed with Zn
	.29 % complexed with SO4	Cl	.01 % complexed with H+
	.05 % complexed with Cl		99.61 % as a free ligand
Na	99.55 % as a free metal		.06 % complexed with Ca
	.18 % complexed with SO4		.17 % complexed with Mg
	.27 % complexed with Cl		.07 % complexed with K
Fe +2	29.92 % as a free metal	PO4	.07 % complexed with Na
	.79 % complexed with SO4		12.94 % complexed with Ca
	6.99 % complexed with PO4		1.26 % complexed with Mg
	62.29 % in solid form with PO4		3.32 % complexed with Fe +2
Mn +2	96.11 % as a free metal		19.74 % in solid form with Fe +2
	3.21 % complexed with SO4		.04 % complexed with Cu +2
	.68 % complexed with Cl		.02 % in solid form with Cu +2
Cu +2	89.26 % as a free metal	NH3	.09 % complexed with Zn
	3.75 % complexed with SO4		62.58 % complexed with H+
	.40 % complexed with Cl		.02 % as a free ligand
	2.34 % complexed with PO4	B(OH)4	99.97 % complexed with H+
	1.84 % in solid form with PO4		.02 % as a free ligand
	2.13 % complexed with NH3	MoO4	99.98 % complexed with H+
	.29 % complexed with OH-		95.78 % as a free ligand
Zn	93.61 % as a free metal		4.22 % complexed with H+

3.12 % complexed with SO4
 .42 % complexed with Cl
 2.59 % complexed with PO4
 .26 % complexed with OH-

QUADRO A3) TRATAMENTO T4 (5%)

These computations involve 9 metals, 6 ligands, 71 complexes, and 29 possible solids.

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMEBER 1

Nutrient	Tot.Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 3.073E-02 (computed)		
Ca	7.656E-03	6.569E-03	Fixed pH = 5.400		
Mg	1.603E-03	1.422E-03			
Na	1.652E-04	1.631E-04			
Fe +2	2.864E-05	2.548E-05	Solid	Number	mol/L of solution
Mn +2	3.548E-04	3.030E-04	Ca	MoO4	1
Cu +2	3.006E-04	2.485E-04			5.882E-05
Zn	2.228E-03	1.907E-03	The solution contains 2.127E-02 equivalents		
Co +2	3.565E-05	2.791E-05	per liter of cationic species, -1.319E-02		
SO4	4.581E-03	2.975E-03	eq/L of anionic species, and thus has a		
Cl	7.228E-03	7.195E-03	computed net charge of 8.077E-03 eq/L.		
NH3	5.610E-05	1.194E-08	This represents an error equal to 37.97		
B(OH)4	3.236E-03	6.138E-07	percent of the total charge of cationic		
MoO4	8.241E-05	2.252E-05	species in solution		

Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	85.80 % as a free metal	SO4	64.94 % as a free ligand
	13.40 % complexed with SO4		22.39 % complexed with Ca
	.03 % complexed with Cl		3.85 % complexed with Mg
	.77 % in solid form with MoO4		.03 % complexed with Na
Mg	88.69 % as a free metal		.07 % complexed with Fe +2
	11.00 % complexed with SO4		1.03 % complexed with Mn +2
	.31 % complexed with Cl		1.07 % complexed with Cu +2
Na	98.73 % as a free metal		6.50 % complexed with Zn
	.75 % complexed with SO4		.12 % complexed with Co +2
	.51 % complexed with Cl	Cl	.02 % complexed with H+
Fe +2	88.96 % as a free metal		99.54 % as a free ligand
	11.03 % complexed with SO4		.04 % complexed with Ca
Mn +2	85.41 % as a free metal		.07 % complexed with Mg
	13.33 % complexed with SO4		.01 % complexed with Na
	1.26 % complexed with Cl		.06 % complexed with Mn +2
Cu +2	82.65 % as a free metal		.03 % complexed with Cu +2
	16.25 % complexed with SO4		.25 % complexed with Zn
	.77 % complexed with Cl	NH3	.02 % as a free ligand
	.32 % complexed with OH-		.05 % complexed with Cu +2
Zn	85.58 % as a free metal		99.93 % complexed with H+
	13.36 % complexed with SO4	H3BO3	.02 % as a free ligand
	.79 % complexed with Cl		.07 % complexed with Co +2
	.26 % complexed with OH-		99.91 % complexed with H+
Co +2	78.30 % as a free metal	MoO4	27.32 % as a free ligand
	15.39 % complexed with SO4		71.37 % in solid form with Ca
	.12 % complexed with Cl		1.31 % complexed with H+
	6.19 % complexed with B(OH)4		

QUADRO A4) TRATAMENTO T4 (20%)

These computations involve 9 metals, 6 ligands, 71 complexes, and 29 possible solids

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMEBER 1

Nutrient	Tot. Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 1.075E-01 (computed) Fixed pH = 5.400			
Ca	3.062E-02	2.311E-02				
Mg	6.501E-03	5.519E-03				
Na	6.607E-04	6.401E-04	Solid	Number	mol/L of solution	
Fe +2	1.127E-04	9.646E-05	Ca	SO4	1	2.271E-03
Mn +2	1.419E-03	1.132E-03	Ca	MoO4	1	3.168E-04
Cu +2	1.202E-03	9.270E-04				
Zn	8.913E-03	7.185E-03	The solution contains 7.737E-02			
Co +2	1.426E-04	9.396E-05	equivalents per liter of cationic species,			
SO4	1.841E-02	8.247E-03	-4.502E-02 eq/L of anionic species, and			
Cl	2.884E-02	2.848E-02	thus has a computed net charge of 3.235E-			
NH3	2.244E-04	4.270E-08	02 eq/L. This represents an error equal to			
B(OH)4	1.294E-02	2.701E-06	41.81 percent of the total charge of			
MoO4	3.304E-04	1.307E-05	cationic species in solution.			

** Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	75.46 % as a free metal	SO4	44.80 % as a free ligand
	16.00 % complexed with SO4		26.61 % complexed with Ca
	7.42 % in solid form with SO4		12.34 % in solid form with Ca
	.09 % complexed with Cl		5.05 % complexed with Mg
	1.03 % in solid form with MoO4		.05 % complexed with Na
Mg	84.89 % as a free metal		.09 % complexed with Fe +2
	14.29 % complexed with SO4		1.30 % complexed with Mn +2
	.82 % complexed with Cl		1.34 % complexed with Cu +2
Na	96.88 % as a free metal		8.27 % complexed with Zn
	1.45 % complexed with SO4		.14 % complexed with Co +2
	1.66 % complexed with Cl	Cl	98.76 % as a free ligand
Fe +2	85.58 % as a free metal		.11 % complexed with Ca
	14.41 % complexed with SO4		.18 % complexed with Mg
	.01 % complexed with Cl		.04 % complexed with Na
Mn +2	79.79 % as a free metal		.16 % complexed with Mn +2
	16.91 % complexed with SO4		.08 % complexed with Cu +2
	3.30 % complexed with Cl		.66 % complexed with Zn
Cu +2	77.10 % as a free metal	NH3	.02 % as a free ligand
	20.58 % complexed with SO4		.18 % complexed with Cu +2
	2.01 % complexed with Cl		99.80 % complexed with H+
	.03 % complexed with NH3	B(OH)4	.02 % as a free ligand
	.27 % complexed with OH-		.18 % complexed with Co +2
Zn	80.61 % as a free metal		99.80 % complexed with H+
	17.09 % complexed with SO4	MoO4	3.96 % as a free ligand
	2.11 % complexed with Cl		95.90 % in solid form with Ca
	.19 % complexed with OH-		.15 % complexed with H+
Co +2	65.91 % as a free metal		
	17.59 % complexed with SO4		
	.27 % complexed with Cl		
	16.23 % complexed with B(OH)4		

QUADRO A5) TRATAMENTO T2/T5 (5%)

OBS: a concentração da solução T2 é igual a do T5 (5% ou 20%).

These computations involve 10 metals, 8 ligands, 104 complexes, and 44 possible solids.

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Nutrient	Tot. Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 2.587E-02 (computed)
Ca	4.345E-03	3.856E-03	
Mg	2.466E-03	2.235E-03	
K	1.227E-03	1.215E-03	Fixed pH = 5.400
Na	4.571E-04	4.522E-04	
Fe +2	1.718E-04	1.525E-04	
Mn +2	3.206E-04	2.814E-04	
Cu +2	8.337E-05	7.072E-05	Solid Number mol/L of solution
Zn	1.928E-03	1.306E-03	Zn PO4 1 1.457E-04
Co +2	3.565E-05	3.046E-05	
SO4	3.119E-03	2.171E-03	The solution contains 1.948E-02 equivalents per liter of cationic species, -1.204E-02 eq/L of anionic species, and thus has a computed net charge of 7.439E- 03 eq/L. This represents an error equal to 38.19 percent of the total charge of cationic species in solution.
Cl	6.745E-03	6.716E-03	
PO4	3.873E-04	4.800E-13	
NH4+	1.901E-03	4.092E-07	
B(OH)4	3.420E-04	6.407E-08	
MoO4	2.084E-06	1.986E-06	
NO3	8.831E-04	8.813E-04	

Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	88.74 % as a free metal	SO4	69.62 % as a free ligand
	11.09 % complexed with SO4		15.45 % complexed with Ca
	.03 % complexed with Cl		7.11 % complexed with Mg
	.13 % complexed with PO4		.36 % complexed with K
Mg	90.65 % as a free metal		.08 % complexed with Na
	9.00 % complexed with SO4		.49 % complexed with Fe +2
	.31 % complexed with Cl		1.13 % complexed with Mn +2
	.05 % complexed with PO4		.36 % complexed with Cu +2
K	98.99 % as a free metal		5.23 % complexed with Zn
	.92 % complexed with SO4		.15 % complexed with Co +2
	.10 % complexed with Cl	Cl	.02 % complexed with H+
Na	98.93 % as a free metal		99.57 % as a free ligand
	.58 % complexed with SO4		.02 % complexed with Ca
	.49 % complexed with Cl		.11 % complexed with Mg
Fe +2	88.78 % as a free metal		.02 % complexed with K
	8.81 % complexed with SO4		.03 % complexed with Na
	2.33 % complexed with PO4		.06 % complexed with Mn +2
	.07 % complexed with NO3	PO4	.18 % complexed with Zn
Mn +2	87.77 % as a free metal		1.50 % complexed with Ca
	10.97 % complexed with SO4		.29 % complexed with Mg
	1.26 % complexed with Cl		1.03 % complexed with Fe +2
Cu +2	84.83 % as a free metal		.05 % complexed with Cu +2
	13.34 % complexed with SO4		1.07 % complexed with Zn
	.77 % complexed with Cl		75.22 % in solid form with Zn
	.25 % complexed with PO4		.01 % complexed with Co +2
	.35 % complexed with NH3		20.80 % complexed with H+
	.13 % complexed with NO3	NH3	.02 % as a free ligand
	.32 % complexed with OH-		.02 % complexed with Cu +2
Zn	67.74 % as a free metal	B(OH)4	99.96 % complexed with H+
	8.46 % complexed with SO4		.02 % as a free ligand
			.08 % complexed with Co +2
		MoO4	99.90 % complexed with H+

	.61 % complexed with Cl	95.26 % as a free ligand
	.22 % complexed with PO4	4.74 % complexed with H+
	22.67 % in solid form with PO4	NO3
	.08 % complexed with NO3	99.80 % as a free ligand
	.22 % complexed with OH-	.01 % complexed with Fe +2
Co +2	85.47 % as a free metal	.01 % complexed with Cu +2
	13.44 % complexed with SO4	.18 % complexed with Zn
	.12 % complexed with Cl	
	.16 % complexed with PO4	
	.74 % complexed with B(OH)4	
	.06 % complexed with NO3	

QUADRO A6) TRATAMENTO T2/T5 (20%)

These computations involve 10 metals, 8 ligands, 104 complexes, and 44 possible solids.

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMEBER 1

Nutrient	Tot. Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 9.537E-02 (computed)
Ca	1.738E-02	1.456E-02	
Mg	9.886E-03	8.508E-03	
K	4.909E-03	4.793E-03	Fixed pH = 5.400
Na	1.820E-03	1.767E-03	
Fe +2	6.871E-04	5.922E-04	
Mn +2	1.276E-03	1.036E-03	
Cu +2	3.304E-04	2.561E-04	Solid Number mol/L of solution Zn PO4 1 7.565E-04
Zn	7.727E-03	4.459E-03	
Co +2	1.426E-04	1.118E-04	
SO4	1.242E-02	6.967E-03	The solution contains 7.352E-02 equivalents per liter of cationic species, -4.422E-02 eq/L of anionic species, and thus has a computed net charge of 2.930E-02 eq/L. This represents an error equal to 39.85 percent of the total charge of cationic species in solution.
Cl	2.692E-02	2.661E-02	
PO4	1.549E-03	2.925E-13	
NH3	7.603E-03	1.461E-06	
B(OH)4	1.352E-03	2.779E-07	
MoO4	6.252E-06	6.020E-06	
NO3	3.532E-03	3.514E-03	

Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	83.80 % as a free metal	SO4	56.11 % as a free ligand
	16.08 % complexed with SO4		22.50 % complexed with Ca
	.10 % complexed with Cl		10.44 % complexed with Mg
	.03 % complexed with PO4		.81 % complexed with K
Mg	86.06 % as a free metal		.19 % complexed with Na
	13.12 % complexed with SO4		.73 % complexed with Fe +2
	.81 % complexed with Cl		1.60 % complexed with Mn +2
K	97.63 % as a free metal		.50 % complexed with Cu +2
	2.05 % complexed with SO4		6.89 % complexed with Zn
	.31 % complexed with Cl	Cl	.22 % complexed with Co +2
Na	97.12 % as a free metal		.01 % complexed with H+
	1.29 % complexed with SO4		98.85 % as a free ligand
	1.59 % complexed with Cl		.07 % complexed with Ca
Fe +2	86.19 % as a free metal		.30 % complexed with Mg
	13.14 % complexed with SO4		.06 % complexed with K
	.01 % complexed with Cl		.11 % complexed with Na
	.47 % complexed with PO4		.16 % complexed with Mn +2
	.18 % complexed with NO3	PO4	.02 % complexed with Cu +2
Mn +2	81.15 % as a free metal		.43 % complexed with Zn
	15.57 % complexed with SO4		.29 % complexed with Ca
			.05 % complexed with Mg
			.21 % complexed with Fe +2
			.01 % complexed with Cu +2

	3.28 % complexed with Cl		.18 % complexed with Zn
Cu +2	77.52 % as a free metal		97.69 % in solid form with Zn
	18.73 % complexed with SO4	NH3	1.56 % complexed with H+
	1.98 % complexed with Cl		.02 % as a free ligand
	.05 % complexed with PO4		.05 % complexed with Cu +2
	1.16 % complexed with NH3		99.93 % complexed with H+
	.33 % complexed with NO3	B(OH)4	
	.24 % complexed with OH-		.02 % as a free ligand
Zn	57.71 % as a free metal		.22 % complexed with Co +2
	11.07 % complexed with SO4		99.76 % complexed with H+
	1.48 % complexed with Cl	MoO4	
	.04 % complexed with PO4		96.29 % as a free ligand
	29.37 % in solid form with PO4		3.71 % complexed with H+
	.19 % complexed with NO3	NO3	
	.14 % complexed with OH-		99.50 % as a free ligand
Co +2	78.44 % as a free metal		.04 % complexed with Fe +2
	18.95 % complexed with SO4		.03 % complexed with Cu +2
	.32 % complexed with Cl		.42 % complexed with Zn
	.03 % complexed with PO4		
	.01 % complexed with NH3		
	2.08 % complexed with B(OH)4		
	.17 % complexed with NO3		

QUADRO A7) TRATAMENTO T6 (5%)

These computations involve 10 metals, 8 ligands, 104 complexes, and 44 possible solids.

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Nutrient	Tot.Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 2.047E-02 (computed)
Ca	2.992E-03	2.833E-03	
Mg	2.466E-03	2.355E-03	
K	1.202E-03	1.196E-03	Fixed pH = 5.400
Na	4.093E-04	4.062E-04	
Fe +2	5.370E-05	5.056E-05	
Mn +2	2.692E-04	2.517E-04	Solid Number mol/L of solution
Cu +2	3.148E-06	2.900E-06	Zn PO4 1 1.974E-06
Zn	1.754E-03	1.634E-03	
Co +2	3.565E-05	3.322E-05	
SO4	1.216E-03	8.458E-04	The solution contains 1.634E-02 equivalents per liter of cationic species, -8.581E-03 eq/L of anionic species, and thus has a computed net charge of 7.762E-03 eq/L. This represents an error equal to 47.49 percent of the total charge of cationic species in solution.
Cl	6.486E-03	6.455E-03	
PO4	6.457E-05	2.788E-13	
NH3	3.750E-04	8.185E-08	
B(OH)4	3.698E-05	6.709E-09	
MoO4	1.042E-06	9.902E-07	
NO3	3.741E-04	3.732E-04	

Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	94.69 % as a free metal	SO4	69.55 % as a free ligand
	5.17 % complexed with SO4		12.72 % complexed with Ca
	.04 % complexed with Cl		8.40 % complexed with Mg
	.10 % complexed with PO4		.38 % complexed with K
Mg	95.49 % as a free metal		.08 % complexed with Na
	4.14 % complexed with SO4		.18 % complexed with Fe +2
	.33 % complexed with Cl		1.13 % complexed with Mn +2
	.03 % complexed with PO4		.02 % complexed with Cu +2
K	99.52 % as a free metal		7.34 % complexed with Zn
	.38 % complexed with SO4		.19 % complexed with Co +2
		Cl	.02 % complexed with H+

Na	.10 % complexed with Cl	99.51 % as a free ligand
	99.26 % as a free metal	.02 % complexed with Ca
	.24 % complexed with SO4	.13 % complexed with Mg
	.50 % complexed with Cl	.02 % complexed with K
Fe +2		.03 % complexed with Na
	94.16 % as a free metal	.06 % complexed with Mn +2
	4.08 % complexed with SO4	.24 % complexed with Zn
	1.72 % complexed with PO4	
	.03 % complexed with NO3	PO4
Mn +2		4.62 % complexed with Ca
	93.51 % as a free metal	1.31 % complexed with Mg
	5.11 % complexed with SO4	1.43 % complexed with Fe +2
	1.38 % complexed with Cl	5.61 % complexed with Zn
Cu +2		6.11 % in solid form with Zn
	92.12 % as a free metal	.07 % complexed with Co +2
	6.33 % complexed with SO4	80.83 % complexed with H+
	.86 % complexed with Cl	NH3
	.19 % complexed with PO4	.02 % as a free ligand
	.08 % complexed with NH3	99.98 % complexed with H+
	.06 % complexed with NO3	B(OH)4
	.36 % complexed with OH-	.02 % as a free ligand
Zn		.09 % complexed with Co +2
	93.14 % as a free metal	99.89 % complexed with H+
	5.09 % complexed with SO4	MoO4
	.87 % complexed with Cl	95.00 % as a free ligand
	.21 % complexed with PO4	5.00 % complexed with H+
	.34 % in solid form with PO4	NO3
	.05 % complexed with NO3	99.76 % as a free ligand
	.31 % complexed with OH-	.24 % complexed with Zn
Co +2		
	93.21 % as a free metal	
	6.41 % complexed with SO4	
	.14 % complexed with Cl	
	.12 % complexed with PO4	
	.09 % complexed with B(OH)4	
	.03 % complexed with NO3	

QUADRO A8) TRATAMENTO T6 (20%)

These computations involve 10 metals, 8 ligands, 104 complexes, and 44 possible solids.

Table 1-A. CASE PROGRESS & FREE METALS, LIGANDS FOR CASE NUMEBER 1 *****

Nutrient	Tot.Conc (mol/L)	Free Conc (mol/L)	Ionic Strength = 5.000E-02 (estimated) Ionic Strength = 7.816E-02 (computed)
Ca	1.197E-02	1.105E-02	
Mg	9.886E-03	9.198E-03	
K	4.808E-03	4.753E-03	Fixed pH = 5.400
Na	1.629E-03	1.595E-03	
Fe +2	2.183E-04	2.041E-04	
Mn +2	1.076E-03	9.587E-04	
Cu +2	1.259E-05	1.107E-05	Solid Number mol/L of solution
Zn	7.015E-03	6.028E-03	Zn PO4 1 1.033E-04
Co +2	1.426E-04	1.283E-04	
SO4	4.808E-03	2.654E-03	The solution contains 6.332E-02 equivalents per liter of cationic species, -3.253E-02 eq/L of anionic species, and thus has a computed net charge of 3.080E-02 eq/L. This represents an error equal to 48.63 percent of the total charge of cationic species in solution.
Cl	2.600E-02	2.566E-02	
PO4	2.259E-04	1.495E-13	
NH3	1.500E-03	2.925E-07	
B(OH)4	1.294E-04	2.637E-08	
MoO4	4.169E-06	4.009E-06	
NO3	1.496E-03	1.487E-03	

Table 1-D. PRIMARY DISTRIBUTION OF METALS AND LIGANDS FOR CASE NUMBER 1

Ca	92.30 % as a free metal	SO4	55.19 % as a free ligand
	7.57 % complexed with SO4		18.84 % complexed with Ca
	.11 % complexed with Cl		12.46 % complexed with Mg
	.02 % complexed with PO4		.83 % complexed with K
Mg	93.05 % as a free metal		.18 % complexed with Na
	6.06 % complexed with SO4		.28 % complexed with Fe +2
	.89 % complexed with Cl		1.64 % complexed with Mn +2
K	98.86 % as a free metal		.02 % complexed with Cu +2
	.83 % complexed with SO4		10.28 % complexed with Zn
	.31 % complexed with Cl		.28 % complexed with Co +2
Na	97.90 % as a free metal	Cl	.01 % complexed with H+
	.52 % complexed with SO4		98.69 % as a free ligand
	1.59 % complexed with Cl		.06 % complexed with Ca
Fe +2	93.50 % as a free metal		.34 % complexed with Mg
	6.09 % complexed with SO4		.06 % complexed with K
	.01 % complexed with Cl		.10 % complexed with Na
	.31 % complexed with PO4	PO4	.15 % complexed with Mn +2
	.09 % complexed with NO3		.60 % complexed with Zn
Mn +2	89.06 % as a free metal		.91 % complexed with Ca
	7.30 % complexed with SO4		.24 % complexed with Mg
	3.64 % complexed with Cl		.30 % complexed with Fe +2
Cu +2	87.94 % as a free metal		1.03 % complexed with Zn
	9.08 % complexed with SO4		91.42 % in solid form with Zn
	2.27 % complexed with Cl		.01 % complexed with Co +2
	.03 % complexed with PO4		6.08 % complexed with H+
	.26 % complexed with NH3	NH3	.02 % as a free ligand
	.16 % complexed with NO3		99.98 % complexed with H+
	.26 % complexed with OH-	B(OH)4	.02 % as a free ligand
Zn	85.94 % as a free metal		.26 % complexed with Co +2
	7.05 % complexed with SO4		99.72 % complexed with H+
	2.22 % complexed with Cl	MoO4	96.17 % as a free ligand
	.03 % complexed with PO4		3.83 % complexed with H+
	4.42 % in solid form with PO4	NO3	99.38 % as a free ligand
	.13 % complexed with NO3		.01 % complexed with Fe +2
	.22 % complexed with OH-		.60 % complexed with Zn
Co +2	90.00 % as a free metal		
	9.29 % complexed with SO4		
	.37 % complexed with Cl		
	.02 % complexed with PO4		
	.24 % complexed with B(OH)4		
	.08 % complexed with NO3		

DADOS GERAIS

Massas atômicas dos nutrientes (PM)			
----- (g mol ⁻¹) -----			
N	14,0067	Zn	65,38
P	30,9738	Mn	54,938
K	39,098	Cu	63,546
Ca	40,08	Fe	55,847
Mg	24,305	B	10,81
S	32,06	Na	22,9898
Cl	35,453	Mo	95,94
		Co	58,9332

Conversão de Unidades

$$\text{Mol/L} = (\text{g/dm}^3) / \text{PM}$$

$$\text{Mol/L} = (\text{mg/dm}^3) / (1000 * \text{PM})$$

Entrada no Geochem PC:

$$- \log (\text{mol} / \text{L})$$

APÊNDICE B

Quadro B1. Quadrado médio da análise de variância das variáveis produção de grãos (g vaso⁻¹) e teores foliares de macronutrientes (g kg⁻¹) em feijoeiro comum (cv. Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de três biofertilizantes e três soluções de fertilizantes a concentração de 5% e de 20% (Capítulo I). Abril a junho de 2004.

F. Variação	GL	Produção	p-valor	N-NH ₄ ⁺	p-valor	P	p-valor	K ⁺	p-valor	Ca ⁺⁺	p-valor	Mg ⁺⁺	p-valor	S-SO ₄ ⁻²	p-valor
Pulverização a concentração de 5%															
Bloco	3	0,8722	-	9,7565	-	0,0318	-	3,1786	-	1,3690	-	0,0652	-	0,0214	-
Formulação	5	2,3983	0,0593	9,2068	0,1618	0,3534	0,0000	5,6667	0,0018	8,5667	0,0000	0,7534	0,0000	0,5148	0,0000
Trat.vs Adicional	1	0,2081	0,6387	7,5863	0,2379	0,2515	0,0000	64,3810	0,0000	24,3810	0,0000	0,8715	0,0000	0,6563	0,0000
Tratamentos (7)	(6)	2,0333	0,0878	8,9367	0,1653	0,3364	0,0000	15,4524	0,0000	11,2024	0,0000	0,7731	0,0000	0,5383	0,0000
Resíduo	18	0,9126	-	5,0890	-	0,0071	-	0,9286	-	0,6468	-	0,0058	-	0,0109	-
Média geral	-	2,211	-	27,23	-	2,07	-	18,54	-	16,46	-	4,29	-	1,75	-
CV(%)	-	43,21%	-	8,29%	-	4,06%	-	5,20%	-	4,88%	-	1,77%	-	5,96%	-
Pulverização a concentração de 20%															
Bloco	3	0,8911	-	7,6667	-	0,0242	-	3,7500	-	2,2262	-	0,0356	-	0,0299	-
Formulação	5	0,8475	0,2654	159,100	0,0000	0,1484	0,0000	16,6667	0,0000	2,9667	0,0004	0,1517	0,0000	0,1377	0,0004
Trat.vs Adicional	1	0,3198	0,4740	42,0000	0,0000	0,0172	0,1473	6,0952	0,0309	29,1667	0,0000	0,5717	0,0000	0,4002	0,0001
Tratamentos (7)	(6)	0,7596	0,3193	139,583	0,0000	0,1265	0,0000	14,9048	0,0000	7,3333	0,0000	0,2217	0,0000	0,1814	0,0000
Resíduo	18	0,5980	-	0,3611	-	0,0075	-	1,1111	-	0,3651	-	0,0098	-	0,0168	-
Média geral	-	1,738	-	31,50	-	2,24	-	21,11	-	16,25	-	4,38	-	1,83	-
CV(%)	-	44,50%	-	1,91%	-	3,87%	-	4,99%	-	3,72%	-	2,26%	-	7,08%	-

Quadro B2. Quadrado médio da análise de variância das variáveis teores foliares de micronutrientes (mg kg^{-1}) em feijoeiro comum (cv. Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de três biofertilizantes e três soluções de fertilizantes a concentração de 5% e de 20% (Capítulo I). Abril a junho de 2004.

F. Variação	GL	Zn⁺⁺	p-valor	Mn⁺⁺	p-valor	Cu⁺⁺	p-valor	Fe⁺⁺	p-valor	B	p-valor	Na⁺	p-valor
----- Pulverização a concentração de 5% -----													
Bloco	3	28,9881	-	340,4762	-	0,3429	-	213,7500	-	63,7143	-	80,6190	-
Formulação	5	9303,0417	0,0000	7252,0417	0,0000	35,3810	0,0000	1762,2667	0,0000	60,1417	0,0023	209,5667	0,0386
Trat.vs Adicional	1	19565,2917	0,0000	68,1488	0,4180	13,3736	0,0000	80,0952	0,0587	43,0060	0,0568	1560,381	0,0002
Tratamentos (7)	(6)	11013,4167	0,0000	6054,7262	0,0000	31,7131	0,0000	1481,9048	0,0000	57,2857	0,0021	434,7024	0,0011
Resíduo	18	14,2103	-	99,1706	-	0,4079	-	19,6667	-	10,3810	-	69,9246	-
Média geral	-	129,25	-	334,57	-	7,14	-	126,39	-	59,71	-	97,21	-
CV(%)	-	2,92%	-	2,98%	-	8,94%	-	3,51%	-	5,40%	-	8,60%	-
----- Pulverização a concentração de 20% -----													
Bloco	3	160,6667	-	124,4762	-	2,3032	-	83,6667	-	39,3690	-	140,8929	-
Formulação	5	74187,4667	0,0000	1206,9417	0,0001	149,081	0,0000	1495,4417	0,0000	4161,3667	0,0000	2213,1417	0,0000
Trat. vs Adicional	1	226600,595	0,0000	575,7202	0,0375	168,200	0,0000	1365,7202	0,0005	806,0952	0,0000	76,0060	0,3977
Tratamentos (7)	(6)	99589,6548	0,0000	1101,7381	0,0001	152,267	0,0000	1473,8214	0,0000	3602,1548	0,0000	1856,9524	0,0000
Resíduo	18	64,4167	-	114,0873	-	0,7563	-	75,3611	-	22,9802	-	101,2540	-
Média geral	-	284,86	-	341,86	-	11,45	-	139,36	-	75,89	-	119,54	-
CV(%)	-	2,82%	-	3,12%	-	7,59%	-	6,23%	-	6,32%	-	8,42%	-

Quadro B3. Desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos do Quadro B1, em contrastes ortogonais da produção de grãos (g vaso⁻¹) e dos teores foliares de macronutrientes (g kg⁻¹) em feijoeiro comum (cv. Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de três biofertilizantes e três soluções de fertilizantes a concentração de 5% e de 20% (Capítulo I). Abril a junho de 2004.

F. Variação	GL	(g/vaso)	p-valor	N-NH₄⁺	p-valor	P	p-valor	K⁺	p-valor	Ca⁺⁺	p-valor	Mg⁺⁺	p-valor	S-SO₄⁻	p-valor
Bloco	3														
Resíduo	18	----- Pulverização a concentração de 5% -----													
C ₁ : Contr. vs demais	1	-1,478	0,6387	8,925	0,2379	1,625	0,0000	26,00	0,0000	16,000	0,0000	3,025	0,0000	2,625	0,0000
C ₂ : T ₁ T ₂ T ₃ vs T ₄ T ₅ T ₆	1	0,034	0,9775	4,675	0,1079	-0,975	0,0000	0,500	0,6768	-4,000	0,0007	-1,375	0,0000	-0,975	0,0000
C ₃ : T ₁ vs T ₂ T ₃	1	0,528	0,6574	-5,375	0,0675	0,475	0,0002	0,000	1,0000	2,500	0,0206	1,000	0,0000	0,525	0,0007
C ₄ : T ₂ vs T ₃	1	-0,306	0,6560	-1,125	0,4897	0,025	0,6790	0,000	1,0000	-2,500	0,0003	-0,400	0,0000	-0,025	0,7385
C ₅ : T ₄ vs T ₅ T ₆	1	-1,876	0,1262	-2,125	0,4518	0,325	0,0054	-3,250	0,0131	0,750	0,4563	0,600	0,0000	0,450	0,0024
C ₆ : T ₅ vs T ₆	1	-2,153	0,0051	-1,825	0,2676	0,675	0,0000	3,250	0,0002	2,750	0,0001	0,800	0,0000	0,900	0,0000
Bloco	3														
Resíduo	18	----- Pulverização a concentração de 20% -----													
C ₁ : Contr. vs demais	1	1,832	0,4740	-21,000	0,0000	0,425	0,1473	8,000	0,0309	17,500	0,0000	2,450	0,0000	2,050	0,0001
C ₂ : T ₁ T ₂ T ₃ vs T ₄ T ₅ T ₆	1	0,640	0,5080	11,500	0,0000	0,075	0,4886	2,000	0,1387	3,500	0,0002	0,750	0,0000	0,500	0,0056
C ₃ : T ₁ vs T ₂ T ₃	1	-1,050	0,2823	-23,750	0,0000	-0,500	0,0002	0,000	1,0000	1,750	0,0295	-0,275	0,0355	-0,350	0,0409
C ₄ : T ₂ vs T ₃	1	-0,988	0,0874	3,250	0,0000	0,000	1,0000	-2,500	0,0035	-0,750	0,0962	0,375	0,0000	0,250	0,0139
C ₅ : T ₄ vs T ₅ T ₆	1	0,650	0,5013	21,500	0,0000	-0,425	0,0008	-1,750	0,1920	-1,500	0,0577	-0,275	0,0355	-0,225	0,1738
C ₆ : T ₅ vs T ₆	1	0,705	0,2134	-1,000	0,0302	0,475	0,0000	5,750	0,0000	1,000	0,0310	0,025	0,7246	0,375	0,0007

Quadro B4. Desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos do Quadro B2, em contrastes ortogonais dos teores foliares de micronutrientes (g kg^{-1}) em feijoeiro comum (cv. Valente) aos 40 d.a.e do experimento em casa-de-vegetação, em função da pulverização de três biofertilizantes e três soluções de fertilizantes a concentração de 5% e de 20% (Capítulo I). Abril a junho de 2004.

F. Variação	GL	Zn⁺⁺	p-valor	Mn⁺⁺	p-valor	Cu⁺⁺	p-valor	Fe⁺⁺	p-valor	B	p-valor	Na⁺	p-valor
Bloco	3												
Resíduo	18	----- Pulverização a concentração de 5% -----											
C ₁ : Contr. vs demais	1	-453,25	0,0000	-26,75	0,4180	-11,85	0,0000	-29,00	0,0587	21,25	0,0568	128,0	0,0002
C ₂ : T ₁ T ₂ T ₃ vs T ₄ T ₅ T ₆	1	-174,75	0,0000	-124,75	0,0000	-7,75	0,0000	28,00	0,0001	13,25	0,0035	5,00	0,6313
C ₃ : T ₁ vs T ₂ T ₃	1	-154,25	0,0000	5,50	0,6574	-2,65	0,0033	34,50	0,0000	-8,75	0,0397	-15,00	0,1603
C ₄ : T ₂ vs T ₃	1	-27,75	0,0000	-94,50	0,0000	-1,30	0,0100	-43,00	0,0000	-3,25	0,1708	15,00	0,0207
C ₅ : T ₄ vs T ₅ T ₆	1	73,00	0,0000	66,00	0,0000	13,15	0,0000	-23,00	0,0005	-4,50	0,2691	-10,00	0,3418
C ₆ : T ₅ vs T ₆	1	51,00	0,0000	50,50	0,0000	2,60	0,0000	41,50	0,0000	7,00	0,0066	13,50	0,0348
Bloco	3												
Resíduo	18	----- Pulverização a concentração de 20% -----											
C ₁ : Contr. vs demais	1	-1542,50	0,0000	-77,75	0,0375	-42,025	0,0000	-119,75	0,0005	-92,00	0,0000	-28,25	0,3977
C ₂ : T ₁ T ₂ T ₃ vs T ₄ T ₅ T ₆	1	-332,50	0,0000	26,25	0,0601	-3,425	0,0048	-10,25	0,3478	140,00	0,0000	63,25	0,0001
C ₃ : T ₁ vs T ₂ T ₃	1	-646,25	0,0000	-74,50	0,0000	-18,175	0,0000	-24,00	0,0367	-102,50	0,0000	88,50	0,0000
C ₄ : T ₂ vs T ₃	1	-18,75	0,0039	11,50	0,1452	-0,575	0,3621	-5,50	0,3821	-17,50	0,0001	-29,00	0,0007
C ₅ : T ₄ vs T ₅ T ₆	1	-159,00	0,0000	-46,00	0,0025	24,825	0,0000	-89,00	0,0000	-12,75	0,0435	-13,25	0,2965
C ₆ : T ₅ vs T ₆	1	25,00	0,0003	10,00	0,2021	7,275	0,0000	29,00	0,0002	2,75	0,4278	26,25	0,0017

Quadro B5. Quadrado médio da análise de variância geral (ANOVA) e do desdobramento dos tratamentos em efeito linear e quadrático, por meio de polinômios ortogonais, das variáveis teores foliares de macronutrientes (g kg^{-1}) em feijoeiro comum (cv Paina) amostrados aos 35 d.a.e (estádio R6) do experimento de campo, em função da pulverização de dois biofertilizantes (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido) combinada com quatro concentrações (0%; 5%; 10%; e 20%) (Capítulo I). Setembro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	N-NH ₄ ⁺	p-valor	P	p-valor	K ⁺	p-valor	Ca ⁺⁺	p-valor	Mg ⁺⁺	p-valor	S-SO ₄ ⁻²	p-valor
Bloco	3	4,8438	-	0,0146	-	3,0708	-	2,7488	-	0,5417	-	0,9792	-
Biofertilizante (B)	1	3,6450	0,5804	0,0200	0,4069	2,1013	0,4586	19,2200	0,0461	2,0000	0,0115	2,3112	0,0640
Concentração (C)	3	14,3738	0,3191	0,1371	0,0097	2,3692	0,5961	6,0821	0,2643	0,2642	0,4074	0,1833	0,8226
Interação B* C	3	14,1275	0,3263	0,0258	0,4458	10,7087	0,0587	1,6308	0,7674	0,3642	0,2722	0,5746	0,4341
C/(B=1)	3	6,7756	0,6307	0,1123	0,0208	7,6373	0,1346	4,3256	0,4073	0,5175	0,1477	0,6823	0,3601
C/(B=2)	3	21,7256	0,1640	0,0506	0,1756	5,4406	0,2498	3,3873	0,5118	0,1108	0,7375	0,0756	0,9442
BIO SM - L	1	8,4280	0,4028	0,0004	0,9006	19,7250	0,0309	2,8144	0,4263	0,7001	0,1165	0,0052	0,9273
BIO SM - Q	1	3,7715	0,5739	0,1092	0,0613	3,1429	0,3663	3,0860	0,4052	0,8001	0,0947	1,7253	0,1059
Falta de ajuste	1	8,1274	0,4112	0,2273	0,0095	0,0440	0,9140	7,0765	0,2123	0,0524	0,6589	0,3165	0,4773
BIO CM - L	1	1,2164	0,7488	0,0130	0,5022	12,3314	0,0816	0,6112	0,7092	0,2486	0,3403	0,0052	0,9273
BIO CM - Q	1	35,6546	0,0936	0,0006	0,8863	2,5586	0,4142	9,5501	0,1499	0,0773	0,5922	0,2184	0,5542
Falta de ajuste	1	28,3058	0,1325	0,1383	0,0371	1,4318	0,5398	0,0006	0,9909	0,0066	0,8755	0,0033	0,9420
Resíduo puro	21	11,5580	-	0,0279	-	3,6863	-	4,2759	-	0,2612	-	0,6044	-
Média geral	-	38,56	-	2,69	-	24,40	-	17,39	-	4,74	-	3,76	-
CV(%)	-	8,82%	-	6,20%	-	7,87%	-	11,89%	-	10,79%	-	20,66%	-

⁽¹⁾ Falta de ajuste foi calculado com base no modelo linear, $SQ_{FA} = SQ_{C/(B=i)} - SQ_{BIO \text{ Linear}} - SQ_{BIO \text{ Quadrático}}$

Quadro B6. Quadrado médio da análise de variância geral (ANOVA) e do desdobramento dos tratamentos em efeito linear e quadrático, por meio de polinômios ortogonais, das variáveis teores foliares de micronutrientes (mg kg^{-1}) em feijoeiro comum (cv Paina) amostrados aos 35 d.a.e (estádio R6) do experimento de campo, em função da pulverização de dois biofertilizantes (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido) combinada com quatro concentrações (0%; 5%; 10%; e 20%) (Capítulo I). Setembro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	CI ¹	p-valor	Zn ⁺⁺	p-valor	Mn ⁺⁺	p-valor	Cu ⁺⁺	p-valor	Fe ⁺⁺	p-valor	B	p-valor
Bloco	3	8,6478	-	1188,4583	-	2016,1667	-	1,4583	-	658,3333	-	48,4479	-
Biofertilizante (B)	1	2,2578	0,8067	46971,1250	0,0000	8,0000	0,9379	21,1250	0,0014	8,0000	0,8782	195,0313	0,0126
Concentração (C)	3	47,4686	0,3036	7583,4583	0,0001	608,5000	0,7046	3,1250	0,1432	939,6667	0,0634	75,3646	0,0604
Interação B* C	3	49,0170	0,2905	7687,4583	0,0001	946,6667	0,5426	16,1250	0,0002	332,3333	0,4125	112,5313	0,0164
C/(B=1)	3	86,4983	0,1013	230,2500	0,7795	660,9167	0,6775	4,2500	0,0692	198,3333	0,6243	13,5625	0,6748
C/(B=2)	3	9,9873	0,8452	15040,6667	0,0000	894,2500	0,5656	15,0000	0,0003	1073,666	0,0431	174,3333	0,0025
BIO SM - L	1	90,5626	0,1316	18,5786	0,8655	10,8643	0,9277	6,8643	0,0478	8,2571	0,8763	12,3018	0,5008
BIO SM - Q	1	25,4059	0,4153	14,3442	0,8817	337,5584	0,6139	1,8766	0,2842	170,4156	0,4819	1,8766	0,7916
Falta de ajuste	1	143,5266	0,0615	657,8273	0,3193	1634,3273	0,2726	4,0091	0,1231	416,3273	0,2758	26,5091	0,3260
BIO CM - L	1	13,2994	0,5541	41417,6000	0,0000	7,7786	0,9388	43,4571	0,0000	584,2571	0,1992	460,8286	0,0004
BIO CM - Q	1	14,4359	0,5377	2634,8636	0,0540	2560,9351	0,1730	1,4610	0,3432	2345,461	0,0148	33,6623	0,2699
Falta de ajuste	1	2,2266	0,8080	1069,5364	0,2075	114,0364	0,7689	0,0818	0,8207	291,2818	0,3599	28,5091	0,3088
Resíduo	21	36,7802	-	632,1726	-	1287,3095	-	1,5536	-	332,5238	-	26,2098	-
Média geral	-	15,22	-	93,69	-	171,63	-	11,94	-	129,25	-	40,28	-
CV(%)	-	39,86%	-	26,84%	-	20,91%	-	10,44%	-	14,11%	-	12,71%	-

⁽¹⁾ Falta de ajuste foi calculado com base no modelo linear, $SQ_{FA} = SQ_{C/(B=i)} - SQ_{BIO \text{ Linear}} - SQ_{BIO \text{ Quadrático}}$

Quadro B7. Quadrado médio da análise de variância geral (ANOVA) e do desdobramento dos tratamentos em efeito linear e quadrático, por meio de polinômios ortogonais, das variáveis produtividade (kg ha^{-1}), componentes fitotécnicos e índice de área foliar (IAF) de feijoeiro comum (cv. Paina) amostrados aos 35 d.a.e (estádio R6) do experimento de campo, em função da pulverização de dois biofertilizantes (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido) combinada com quatro concentrações (0%; 5%; 10%; e 20%) (Capítulo I). Setembro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	Produção (kg ha^{-1})	p-valor	Nº grãos por vagem	p-valor	Nº de grãos por planta	p-valor	Nº vagens por planta	p-valor	Massa 100 grãos (g)	p-valor	IAF	p-valor
Bloco	3	604.236,4	-	0,8640	-	235,7286	-	8,7036	-	6,8083	-	2,2666	-
Biofertilizante (B)	1	62.341,43	0,0756	0,0597	0,2884	13,9128	0,3868	0,1128	0,6360	0,6694	0,4470	1,3952	0,0006
Concentração (C)	3	108.267,1	0,0038	0,4769	0,0004	1,0020	0,9820	1,4995	0,0503	0,0849	0,9722	0,8190	0,0004
Interação B* C	3	71.064,68	0,0216	0,2620	0,0076	38,5453	0,1225	1,1395	0,1036	1,3280	0,3372	1,0008	0,0001
C/(B=1)	3	119.008,2	0,0024	0,6625	0,0000	25,2156	0,2662	2,5917	0,0071	0,5486	0,6916	1,5621	0,0000
C/(B=2)	3	60.323,57	0,0374	0,0764	0,2388	14,3317	0,5053	0,0473	0,9610	0,8644	0,5208	0,2577	0,0535
BIO SM - L	1	163.557,7	0,0064	0,1285	0,1248	41,0944	0,1437	7,4983	0,0008	0,0343	0,8625	2,6197	0,0000
BIO SM - Q	1	31.889,19	0,1955	0,0285	0,4595	22,3746	0,2750	0,2456	0,4864	1,3478	0,2840	1,9988	0,0001
Falta de ajuste ¹	1	161.577,9	0,0067	1,8305	0,0000	12,1778	0,4176	0,0311	0,8033	0,2636	0,6318	0,0678	0,3844
BIO CM - L	1	2.064,65	0,7371	0,2144	0,0515	20,9831	0,2901	0,0172	0,8532	0,2057	0,6719	0,4126	0,0397
BIO CM - Q	1	178.894,8	0,0047	0,0029	0,8118	9,6000	0,4710	0,1229	0,6214	2,1763	0,1769	0,2254	0,1200
Falta de ajuste ¹	1	11,2814	0,9802	0,0118	0,6327	12,4118	0,4133	0,0018	0,9517	0,2111	0,6679	0,1352	0,2233
Resíduo	21	17.841,27	-	0,0503	-	17,8125	-	0,4891	-	1,1148	-	0,0858	-
Média geral	-	1.486,67	-	4,91	-	56,28	-	11,77	-	14,37	-	2,78	-
CV(%)	-	8,98%	-	4,57%	-	7,50%	-	8,7036	-	7,35%	-	10,52%	-

⁽¹⁾ Falta de ajuste foi calculado com base no modelo linear, $SQ_{FA} = SQ_{C/(B=i)} - SQ_{BIO \text{ Linear}} - SQ_{BIO \text{ Quadrático}}$

Quadro B8. Quadrado médio da análise de variância geral (ANOVA) e do desdobramento dos tratamentos da Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) da mancha angular do feijoeiro comum (cv. Paina) inoculadas (PI) e não inoculadas (PNI) do experimento de campo, em função da pulverização de dois biofertilizantes (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido) combinada com quatro concentrações (0%; 5%; 10%; e 20%) (Capítulo II). Setembro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	AACPD-PI ¹	p-valor	AACPD-PNI ²	p-valor
Bloco	3	44,2343	-	18,7935	-
Biofertilizante (B)	1	0,1647	0,9733	6,1480	0,8287
Concentração (C)	3	269,2226	0,1656	106,0858	0,4931
Interação B* C	3	293,2608	0,1394	83,0481	0,5927
C/(B=1)	3	450,4265	0,0474	129,1776	0,4086
C/(B=2)	3	112,0568	0,5192	59,9563	0,7077
Resíduo	21	143,9590	-	128,0892	-
Média geral	-	36,48	-	30,29	-
CV(%)	-	32,89%	-	37,36%	-

⁽¹⁾ Planta inoculada com *P. griseola*; ⁽²⁾ Planta não inoculada com *P. griseola*.

Quadro B9. Quadrado médio da análise de variância (ANOVA) e do desdobramento dos tratamentos em efeito quadrático da variável porcentagem do número de esporos não germinados (ENG), do experimento de laboratório, em função da concentração (0%; 5%; 10%; 20%; e 50%) do meio líquido salino (0,8%) contendo biofertilizante (BIOSM: biofertilizante comum; BIOCM: biofertilizante enriquecido) (Capítulo I). Setembro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	ENG (BIOSM)	p-valor	ENG (BIOCM)	p-valor
Concentração (C)	4	675,0080	0,0000	346,7500	0,0000
Regressão 2 ^o	2	1189,3239	0,0000	425,3603	0,0000
Falta de ajuste	2	160,6921	0,0211	268,1397	0,0211
Resíduo	15	31,8454	-	31,8454	-
Média geral	-	43,49	-	52,46	-
CV(%)	-	12,98%	-	10,76%	-

Quadro B10. Quadrado médio da análise de variância geral (ANOVA) e do desdobramento da interação da época de avaliação da severidade da mancha angular (CPD) versus biofertilizantes, e os efeitos de regressão de 1º, do experimento de campo com feijoeiro comum (cv. Paina), em função de dois biofertilizantes (BIO SM e BIO CM), quatro concentrações (0; 5; 10; 20%). UENF, outubro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	CPD ¹		CPD	
		Planta inoculada	p-valor	Planta não-inoculada	p-valor
Bloco (B1)	3	-	-	-	-
Biofertilizante (B)	1	0,0975	0,8174	0,0737	0,8267
Concentração (C)	4	3,5431	0,1466	1,6165	0,3797
B*C	4	4,0596	0,7275	0,9036	0,2063
Resíduo A	27	1,7821	-	1,4990	-
(Parcela)	39	-	-	-	-
Época (E)	2	80,7772	0,0000	62,7068	0,0000
B*E	2	0,4871	0,4853	0,0047	0,9878
E/(BIOSM)	2	45,0584	0,0000	31,0217	0,0000
Regressão 1º	1	81,4318	0,0000	3,8635	0,0028
Falta de ajuste ²	1	8,6851	0,0007	58,1799	0,0000
E/(BIOCM)	2	36,2059	0,0000	31,6899	0,0000
Regressão 1º	1	25,5745	0,0000	3,9569	0,0025
Falta de ajuste	1	46,8372	0,0000	59,4229	0,0000
C*E	8	0,8563	0,2796	0,5312	0,2466
B*C*E	8	1,6557	0,0350	0,3783	0,4528
Resíduo B	60	0,6636	-	0,3882	-
Média geral	-	2,396	-	2,001	-
CV _A (%)	-	55,7%	-	61,2%	-
CV _B (%)	-	34,0%	-	31,1%	-

(1) CPD = curva de progresso da doença Mancha angular do feijoeiro. Plantas inoculadas e não inoculadas com *P. griseola* no campo.

(2) Falta de ajuste: $QM_{FA} = QM_{Trat} - QM_{Regressão}$; $F_{Regressão} = (QM_{regress}) / (QM_{Resíduo B})$; $F_{FA} = (QM_{FA}) / (QM_{Resíduo B})$.

Quadro B11. Quadrado médio da análise de variância geral (ANOVA) e do desdobramento da interação do experimento em câmara de nevoeiro, em função de dois biofertilizantes (BIO SM e BIO CM), cinco concentrações e dois intervalos (tempo) entre aplicação foliar e a inoculação com *P. griseola*, em feijoeiro comum (cv. Xamego) cultivado conduzido em câmara nevoeiro. UENF, outubro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	A foliar ²	p-valor	AACPD ³	p-valor
Bloco	3	-	-	-	-
Biofertilizante (B)	1	0,2042	0,5147	65,7039	0,0004
Concentração (C)	4	1,0867	0,0825	12,4387	0,0322
B*C	4	0,9312	0,1248	8,6272	0,1025
Resíduo A	27	0,4684	-	4,0204	-
(Parcela)	(39)	-	-	-	-
Tempo (T)	1	0,4732	0,4786	1,5411	0,4843
B*T	1	1,7362	0,1791	40,1414	0,0010
C*T	4	0,6634	0,5843	3,6510	0,3355
B*C*T	4	0,8696	0,4509	4,7134	0,2162
(Tratamento Fatorial)	(19)	0,8746	0,5355	11,8478	0,0003
Adicional vs Fatorial	1	0,1525	0,6867	74,0676	0,0000
(Todos tratamentos)	(20)	0,8385	0,5787	14,9588	0,0000
B/(T1)	1	0,3748	0,5280	1,5666	0,4808
B/(T7)	1	1,5655	0,2014	104,278	0,0000
T/(B1)	1	2,0111	0,1490	28,7066	0,0045
T/(B2)	1	0,1983	0,6457	12,9760	0,0481
C/(T1)	4	0,3897	0,5145	3,7838	0,4524
C/(T7)	4	1,3604	0,0365	12,3059	0,0300
C/(B1)	4	1,0209	0,0929	12,1733	0,0312
C/(B2)	4	0,9970	0,0993	8,8927	0,0891
Resíduo B	33	0,9212	-	3,0806	-
Média geral	-	4,035	-	4,444	-
CV _A (%)	-	17,0%	-	45,1%	-
CV _B (%)	-	23,8%	-	39,5%	-

Quadro B12. Quadrado médio da análise de variância geral (ANOVA) e do desdobramento da interação época de avaliação da severidade da mancha angular (CPD) versus biofertilizantes, e os efeitos de regressão de 1º, do experimento com feijoeiro comum (cv. Xamego) conduzido em câmara nevoeiro, em função de dois biofertilizantes (BIO SM e BIO CM), cinco concentrações (0; 2,5; 5; 10; 20%) e dois intervalos (tempo) entre aplicação foliar e a inoculação com *P. griseola*, UENF, outubro a dezembro de 2004.

F. Variação	GL	CPD ²	p-valor
Bloco (B1)	3	-	-
Biofertilizante (B)	1	3,8241	0,0001
Concentração (C)	4	0,5922	0,0234
B*C	4	0,3807	0,7627
Resíduo A	27	0,1760	-
(Parcela)	39	-	-
Epoca (E)	2	7,7550	0,0000
B*E	2	0,8434	0,0000
E/(BIOSM)	2	6,5481	0,0000
Regressão 1º	1	9,6094	0,0000
Falta de ajuste	1	3,4868	0,0000
E/(BIOCM)	2	2,0502	0,0000
Regressão 1º	1	1,0637	0,0000
Falta de ajuste	1	3,0367	0,0000
C*E	8	0,0919	0,1023
B*C*E	8	0,0257	0,8569
Resíduo B	60	0,0521	-
Média geral	-	0,836	-
CV _A (%)	-	50,2%	-
CV _B (%)	-	27,3%	-