

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E  
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**DISSERTAÇÃO**

**INFLUÊNCIA DA SUBSTÂNCIA HÚMICA EM PLANTAS DE  
ARROZ (*Oryza sativa* L.) INOCULADAS POR FUNGOS  
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOB ESTRESSE SALINO**

**HELLEN FERNANDA OLIVEIRA DA SILVA**

**2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E  
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**INFLUÊNCIA DA SUBSTÂNCIA HÚMICA EM PLANTAS DE ARROZ  
(*Oryza sativa* L.) INOCULADAS POR FUNGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES SOB ESTRESSE SALINO**

**HELLEN FERNANDA OLIVEIRA DA SILVA**

*Sob Orientação do Professor*  
**Andrés Calderín García**

*e Co-orientação da Professora*  
**Eliane Maria Ribeiro da Silva**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre**, no curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração em Biotecnologia Aplicada.

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2020

S586  
Silvi

SILVA, HELLEN FERNANDA OLIVEIRA, 1991-  
Influência da Substância Húmica em Plantas de Arroz  
(Oryza sativa L.) Inoculadas por Fungos Micorrízicos  
Arbusculares sob Estresse Salino / HELLEN FERNANDA  
OLIVEIRA SILVA. - Rio de Janeiro, 2020.  
137 f.: il.

Orientador: Andrés Calderín García.  
Coorientadora: ELIANE MARIA RIBEIRO DA SILVA.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Pós-Graduação em Fitossanidade  
e Biotecnologia Aplicada, 2020.

1. ALTERAÇÕES NOS PARÂMETROS MORFO-FISIOLÓGICOS EM  
ARROZ (Oryza sativa L.) SOB ESTRESSE SALINO. 2.  
OBTENÇÃO DA DOSE-RESPOSTA DE SUBSTÂNCIA HÚMICA  
EXTRAÍDA DE VERMICOMPOSTO E SUA INFLUÊNCIA NA  
FISIOLOGIA E MORFOLOGIA DE Oryza sativa L.. 3.  
INTERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA HÚMICA E FUNGOS MICORRÍZICOS  
ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE ARROZ (Oryza  
sativa L.) SOB ESTRESSE SALINO. I. Calderín García,  
Andrés , 1981-, orient. II. RIBEIRO DA SILVA, ELIANE  
MARIA , 1956-, coorient. III Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. Pós-Graduação em Fitossanidade  
e Biotecnologia Aplicada. IV. Título.

“O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”. “This Study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Finance Code 001”

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E  
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**HELLEN FERNANDA OLIVEIRA DA SILVA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, área de Concentração em Biotecnologia Aplicada.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 28 / 02 / 2020

*Andrés Calderín García*

Andrés Calderín García. Dr. UFRRJ  
(Orientador)

*Orlando Carlos Huertas Tavares*

Orlando Carlos Huertas Tavares. Dr. UFRRJ

*Camila Pinheiro Nobre*

Camila Pinheiro Nobre. Dr<sup>a</sup>.UEMA

Ao meu filho Davi, razão de tudo.  
Por momentos de sorrisos e brincadeiras que abdiquei.  
Gostaria de deixar registrado que tudo isso só valeu a pena, pois foi pensando em  
realizar todos os nossos sonhos.

***Dedico.***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre estar comigo, guiando meus passos, e não permitindo que em algum momento eu esmorecesse, ou mesmo desistisse.

Agradeço aos meus pais Sebastião Fernando Lopes da Silva e Yara de Oliveira da Silva, pela educação que me foi dada e paciência que tiveram comigo.

Agradeço à minha irmã/amiga/comadre Daniele Oliveira da Silva por sempre acreditar, até mesmo mais do que eu, no meu potencial por sempre me falar palavras de apoio.

Agradeço ao professor Barbara por ter me dado a carta de aceite para meu ingresso no curso da Pós-Graduação, quando eu já não sabia mais para quem pedir. Muito Obrigada!

Agradeço ao professor Andrés Calderín García, pela oportunidade, orientação, e principalmente, por toda paciência comigo, todos os ensinamentos e por sempre acreditar na minha força de vontade. Jamais encontraria orientador/amigo melhor, sempre disposto a ajudar. Muito obrigada!

Agradeço a todos do Laboratório de Química Biológica do Solo, em especial: Orlando, Camila (Laboratório de Química do Solo), Danielle, Thainá, Lucas (meu estagiário preferido), Samuel, Sael, Tadeu, Octávio, e a todos que não citei e que de alguma forma contribuíram para que a rotina de trabalho se tornasse melhor e mais suave. Muito obrigada!

Agradeço ao Laboratório de Solo-Planta, em especial ao professor Everaldo Zonta e sua estagiária Amanda Chales, por todo apoio e estrutura fornecidos para o desenvolvimento deste trabalho, além da amizade e confiança. Muito obrigada!

Agradeço à pesquisadora da EMBRAPA Agrobiologia, Dr<sup>a</sup> Eliane Maria Ribeiro da Silva pela orientação no experimento e a todos do Laboratório de Micorrizas, em especial o técnico Itamar que sempre esteve disponível a ajudar.

## RESUMO GERAL

SILVA, Hellen Fernanda Oliveira. **Influência da substância húmica em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) inoculadas por fungos micorrízicos arbusculares sob estresse salino.** 2020. 121 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Biotecnologia Aplicada). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

A presente dissertação teve como objetivo avaliar o efeito da substância húmica (SH) íntegra extraída de vermicomposto (Vc) caracterizada mediante técnicas espectroscópica e em combinação com fungos micorrízicos arbusculares em plantas de arroz submetidas a estresse salino. No capítulo I, foi verificada a influência de diferentes níveis de estresse salino nos parâmetros morfológicos do sistema radicular e fisiológicos da parte aérea da espécie vegetal em estudo. Foi constatado que a maior concentração salina desencadeou danos fisiológicos em algumas etapas da fotossíntese, acarretando no decréscimo da produção de biomassa nas plantas. Houve influência negativa no desenvolvimento do sistema radicular sob os diferentes níveis de estresse salino. Entretanto, a máxima concentração provocou uma redução em todas as características morfológicas quantificadas, afetando principalmente, o comprimento e número de raízes, exercendo efeitos nocivos no crescimento e desenvolvimento da planta. Esse efeito prejudicial resulta em um declínio na capacidade de absorção de água e nutrientes, diminuindo, conseqüentemente, a quantidade de nutrientes disponíveis para serem translocados aos demais órgãos, interferindo na produtividade. Contudo, ficou evidente que as doses de estresse salino toleradas pelo arroz nas condições experimentais foram as que continham 150 mM e 200 mM de NaCl. O capítulo II teve como objetivo caracterizar espectroscopicamente a SH isoladas a partir de vermicomposto e, posteriormente, avaliar o efeito de diferentes concentrações da SH, em momentos diferentes sob o desenvolvimento dos indicadores morfológicos radiculares e os efeitos causados no rendimento quântico fotossintético. Através do espectro  $^{13}\text{C}$  NMR, notou-se a predominância de estruturas alifáticas devido à predominância de grupos  $\text{C}_{\text{Alkyl}}(\text{H,R})$ ,  $\text{C}_{\text{Alkyl}}\text{-O}$  e o conteúdo de C alifático foi maior que o conteúdo de C aromático. Em seguida, ao avaliar a influência desta substância nas plantas de arroz, foi constatado que apresentaram aumento no desempenho fotossintético com as concentrações de 40 e 60 mg (SH)  $\text{L}^{-1}$ , 144 horas após aplicação, uma vez tendo ocorrido inicialmente um declínio. Essa redução na eficiência fotossintética possivelmente desempenhou um papel de sinalização para a espécie vegetal, o que posteriormente acarretou no aumento do desenvolvimento da mesma. Houveram alterações diferenciadas nas características estruturais do sistema radicular por efeito da aplicação da substância húmica, correlacionada aos aspectos de desenvolvimento da parede celular vegetal. No capítulo III, foi avaliada a influência da interação da dose selecionada de SH e dos fungos micorrízicos *Acaulospora mellea*, *Glomus formosanum*, *Rhizoglomus clarum* e *Glomus* sp. na cultura do arroz submetido a dose de estresse salino. A aplicação da SH em plantas inoculadas com FMA, tanto em condições normais como em meio ao estresse salino, incrementaram significativamente a produção de biomassa da parte aérea e os parâmetros morfológicos do sistema radicular, havendo maior expressividade de interações com o fungo *Rhizoglomus clarum* e *Glomus* sp no estresse salino, destacando-se por terem apresentado estruturas de estabelecimento de simbiose e reprodutivas, em relação a eficiência da colonização micorrízica de acordo com a metodologia utilizada.

**Palavras-chave:** Ácidos Húmicos. Atividade biológica. Simbioses. Salinidade.

## GENERAL ABSTRACT

SILVA, Hellen Fernanda Oliveira. **Influence of humic substance on rice plants (*Oryza sativa* L.) inoculated by arbuscular mycorrhizal fungi under salt stress.** 2020. 121 f. Dissertation (Master in Agronomy, Applied Biotechnology). Institute of Biology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

This dissertation aimed to evaluate the effect of humic substances (HS) extracted from vermicompost (Vc) and characterized by spectroscopic techniques in combination with arbuscular mycorrhizal fungi in rice plants under to salt stress conditions. The chapter I evaluated the influence of different NaCl dose on the roots morphological parameters and physiological systems of the aerial part in plant growth under stress conditions. It was found that the highest salt concentration triggered deleterious effects in some stages of photosynthesis, resulting in a production decrease of biomass in plants. Salt treatments in rice plants exerted negative influence on the development of the root system showing a physiological stress condition. The higher NaCl concentration caused a reduction in all the quantified morphological characteristics, mainly affecting the length and number of roots, exerting harmful effects on the growth and development of plant. This harmful effect results in a decline of water and nutrient absorption capacity. However, it was evident that the doses of salt stress tolerated by rice plant were those that contained 150 mM and 200 mM NaCl. Chapter II aimed to characterize by spectroscopic technics the HS isolated from vermicompost and, subsequently, to evaluate at different times, the effect of different HS concentrations on root morphological indicators and photosynthetic quantum yield. The  $^{13}\text{C}$  NMR spectra show a predominance of aliphatic structures and the predominance of CAlkyl (H, R), CAlkyl-O groups and the aliphatic C content was greater than the aromatic C content. Then, when assessing the influence of this substance on rice plants growth, it was found an increase in photosynthetic performance in plant treated with concentrations of 40 and 60 mg (AH) L<sup>-1</sup>, 144 hours after application, once there was an initial decline. There were different changes in the root system due to the application of the humic substance, correlated with the development aspects of the plant cell wall. The Chapter III evaluated the influence of the application of HS and the mycorrhizal fungi *Acaulospora mellea*, *Glomus formosum*, *Rhizoglyphus clarum* and *Glomus* sp. in rice plant under saline stress. The application of HS in plants inoculated with AMF, both in normal conditions and under salt stress, significantly increased the biomass production of the aerial part and the morphological parameters of root system, with greater expressiveness of interactions with the fungus *Rhizoglyphus clarum* and *Glomus* sp in saline stress, standing out for having presented symbiosis and reproductive structures in relation to the efficiency of mycorrhizal colonization according to the methodology used.

**Keywords:** Humic acids. Biological activity. Symbiosis. Salinity.



## LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

<b>SH</b>	Substância Húmica.
<b>CP MAS <sup>13</sup>C RMN</b>	Ressonância magnética nuclear do isótopo do <sup>13</sup> C em polarização cruzada e rotação no ângulo mágico.
<b>EROs</b>	Espécies reativas de oxigênio.
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio.
<b>Na</b>	Sódio
<b>K</b>	Potássio
<b>P</b>	Fósforo
<b>FMA</b>	Fungos Micorrízicos Arbusculares.
<b>MA</b>	Micorriza Arbuscular

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Arroz ( <i>Oryza sativa</i> L.) .....	4
2.1.2 Importância sócio-econômica .....	4
2.1.3 Problemas que afetam a produção de arroz no Brasil .....	5
2.2 Salinidade .....	8
2.2.1 Efeitos dos sais nos aspectos físicos do solo.....	10
2.2.2 Efeitos dos sais nos aspectos químicos do solo.....	11
2.2.3 Efeitos dos sais na planta: efeito osmótico.....	12
2.2.4 Toxidez.....	13
2.2.5 Mecanismos de tolerância.....	14
2.3 Matéria Orgânica do Solo e sua importância.....	14
2.3.1 Substâncias Húmicas, Origem, Formação e Estrutura.....	15
2.3.2 Influência da Substância Húmica no desenvolvimento vegetal.....	18
2.3.3 Influência da Substância Húmica em condições de estresse salino.....	19
2.3.4 Relação das Substâncias Húmicas com a biota do solo.....	20
2.4 Fungos Micorrízicos Arbusculares.....	21
2.4.1 Fungos Micorrízicos Arbusculares e sua interação com o arroz.....	23
2.4.2 Fungos Micorrízicos Arbusculares em ambientes salinos.....	25
3.CAPÍTULO I.....	28
ALTERAÇÕES NOS PARÂMETROS MORFO-FISIOLÓGICOS EM ARROZ ( <i>Oryza sativa</i> L.) SOB ESTRESSE SALINO .....	28
3.1 RESUMO .....	29
3.2 ABSTRACT .....	30
3.3 INTRODUÇÃO.....	31
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.4.1 Material vegetal e condições experimentais .....	33
3.4.2 Efeito da salinidade no crescimento das plantas e os indicadores de estresse hídrico.....	33
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
3.6 CONCLUSÕES.....	48

4. CAPÍTULO II.....	57
OBTENÇÃO DA DOSE-RESPOSTA DE SUBSTÂNCIA HÚMICA EXTRAÍDA DE VERMICOMPOSTO E SUA INFLUÊNCIA NA FILOSOFIA E MORFOLOGIA DE <i>Oryza sativa</i> L. ....	50
4.1 RESUMO .....	50
4.2 ABSTRACT .....	59
4.3 INTRODUÇÃO.....	60
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
4.4.1 Localização da área para coleta do Vermicomposto.....	54
4.4.2 Extração da Substância Húmica.....	54
4.4.3 Caracterização espectroscópica da Substância Húmica na sua forma íntegra extraída de Vermicomposto .....	54
4.4.4 Análise estatística do dado espectral.....	54
4.4.5 Condução do experimento.....	55
4.4.5.1 Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila <i>a</i> .....	55
4.4.5.2 Análise dos parâmetros da morfologia e desenvolvimento radicular.....	58
4.4.5.3 Análise estatística .....	58
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	59
4.6 CONCLUSÕES .....	68
5. CAPÍTULO 3 .....	69
INTERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA HÚMICA E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE ARROZ ( <i>Oryza sativa</i> L.) SOB ESTRESSE SALINO.....	69
5.1 RESUMO .....	70
5.2 ABSTRACT .....	71
5.3 INTRODUÇÃO.....	72
5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
5.4.1 Localização e caracterização do experimento.....	73
5.4.2 Cultivar de arroz e microrganismos .....	73
5.4.3 Cultivo das plantas de arroz .....	74
5.4.4 Desenho experimental.....	75
5.4.5 Avaliação da massa fresca e seca da parte aérea e radicular.....	75

5.4.6 Determinação de fósforo em folíolos .....	75
5.4.7 Avaliação da colonização micorrízica .....	75
5.4.8 Determinação de macronutrientes.....	76
5.4.9 Avaliação da morfologia e desenvolvimento radicular .....	76
5.4.10 Análise estatística .....	78
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	83
5.6 CONCLUSÕES.....	99
6. CONCLUSÕES GERAIS.....	100
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

Dados divulgados pela Food and Agriculture Organization – FAO em 2013 destaca o arroz como principal fonte de energia para mais da metade da população mundial e que mais de 805 milhões de pessoas em todo o mundo passam fome, com mais de 50% delas vivendo em áreas que dependem da produção de arroz (FAO, 2015). É considerado um alimento de amplo consumo, principalmente, pela população de baixa renda. Entre os produtos destinados à alimentação humana, foi considerado o terceiro de maior importância, ficando atrás do leite e trigo e, em algumas partes do mundo, especialmente na Ásia, é a base da alimentação da população.

A Foreign Agricultural Service / United States Department of Agriculture (FAS / USDA, 2019) divulgou estimativa de produção e comercialização mundial de arroz, a expectativa é de que seja consolidada uma colheita global de 501,4 milhões de toneladas de arroz beneficiado em 2018/2019, maior 1% que a colheita na temporada anterior, estimada em 495,49 milhões de ton. O consumo seguirá crescendo, mas não no mesmo ritmo da oferta, pois o USDA espera 492,4 milhões de ton. beneficiadas em 2018/19. Este crescimento se deve ao aumento populacional na Ásia e à demanda otimista na África.

Assim como outras culturas, o arroz tem sua produtividade afetada por diversos fatores, tais como: nutrição, clima, genética e fitopatologia. Contudo, diante das previsões de crescimento populacional mundial, atingindo nove bilhões de habitantes em 2050 (Ash et al., 2010), existe o desafio de criar métodos avançados e eficientes para aumentar a produção de alimentos e energia renovável sem esgotar os recursos naturais.

A escassez de água potável e a falta de alimentos para grande parte da população serão as duas fortes crises a serem vivenciadas em 2050. Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), estima-se que há no mundo mais de 1,2 bilhão de pessoas sem acesso à água potável, aproximadamente 20% da população mundial (Unesco, 2007).

As atividades praticadas na agricultura consomem cerca de 70% de água do planeta (Aquastat – FAO, 2010), e o uso descontrolado de pesticidas e fertilizantes contribuem para um maior impacto de contaminação dos lençóis freáticos e mananciais subterrâneos. Do mesmo modo que em algumas regiões produtoras do Brasil como, por exemplo, o nordeste caracterizado por apresentar um clima semiárido, tal qual necessita da irrigação para garantir a produtividade das culturas, constituindo-se em uma importante alternativa de assegurar a produção de alimentos em períodos de escassez de chuvas (FIGUEIRÊDO, 2005). Entretanto, tal prática provoca aumento da densidade do solo, devido ao baixo teor de matéria orgânica em solos tropicais e principalmente, ao excesso de sais na superfície. Os sais se acumulam no solo provocando mudanças nas suas propriedades físicas e químicas, modificando o conteúdo de bases trocáveis no solo, acarretando na degradação do mesmo. Esse processo pode ser agravado pela utilização de implementos de forma mais intensa visando à maximização da produção e em condições de excesso de umidade característicos desse sistema de cultivo.

Frente a este cenário, a biotecnologia aplicada às plantas ocupa um papel central na busca por soluções para mitigar os problemas atuais e futuros, causados por escolhas feitas pela humanidade (Carrer et al., 2010). Atuando de algumas formas para melhorar a eficiência do uso da água na agricultura, bem como: desenvolvimento de espécies tolerantes a seca, reduzindo a irrigação intensiva e conservando a água nos solos, além de preservar a estrutura e composição dos mesmos, pois são meios biológicos ricos em microrganismos que desempenham importantes funções, especialmente no ciclo do carbono e na gênese de substâncias húmicas (SH), caracterizado por ser um produto obtido através da humificação da matéria orgânica, além de apresentar propriedades

químicas e estruturais concedidas pelos materiais orgânicos e fatores ambientais das quais são originárias e consideradas como responsáveis por estimular o crescimento vegetal (FAÇANHA et al., 2002). Existindo uma relação entre a fonte das SH, sua estrutura e bioatividade (CANELLAS et al., 2012b). A capacidade das SH e suas frações em promover o crescimento vegetal tem sido muito estudado em diferentes espécies vegetais por diversos autores (CANELLAS et al., 2015; Da SILVA et al., 2015; GARCÍA et al., 2016c) utilizando diferentes fontes de SH (solo, carvão, leonardita, vermicomposto, lodo de esgoto, etc), mostrando uma gama de efeitos positivos. Os principais efeitos têm sido relacionados com o crescimento radicular, acúmulo de biomassa e promoção de pêlos radiculares (FAÇANHA et al., 2002a). De acordo com Muscolo et al. (2013), a atuação das SH sobre as plantas deve-se ao predomínio de efeitos tipo auxina e de estruturas não lignínicas.

Além dos efeitos como promotores do crescimento vegetal, as SH têm um papel fundamental na biologia do solo, servindo como fonte de energia para os microrganismos não fotossintéticos, como bactérias e fungos, que necessitam de substâncias contendo carbono residual (WHITBY e VAN den BERG., 2015). Na biota do solo, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) têm uma relevante atribuição ao formar associações simbióticas mutualísticas com cerca de 90% das plantas vasculares (SIQUEIRA et al., 2002), potencializando nas plantas micorrizadas a disponibilidade de água e nutrientes (SMITH e READ, 1997), singularmente os que apresentam pouca mobilidade no solo como o fósforo (P) (JANSA et al., 2003), e propiciando a capacidade de sobrevivência das plantas (BRAHMAPRAKASH e SAHU, 2012; Du JARDIN, 2015). Há alguns estudos na literatura que relatam a presença de um efeito sinérgico entre as SH e FMA. Segundo Lima (2008), a influência estaria relacionada colonização micorrízica, ao aumento da esporulação (NOBRE et al., 2013) e número de hifas intra e extra radiculares (GRYNDLER et al., 2005). Todos os benefícios fornecidos contribuem para uma agricultura mais ecologicamente sustentável.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como **hipótese científica**:

H0: não existe um estímulo da SH nos parâmetros morfo-fisiológicos em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), assim como não há influência dos FMAs quando submetidos ao estresse salino;

H1: existe um estímulo da SH nos parâmetros morfo-fisiológicos em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), assim como há influência dos FMAs quando submetidos ao estresse salino.

O **objetivo geral** proposto por este trabalho foi:

Avaliar as características químicas da substância húmica, isolada de vermicomposto na sua forma íntegra (AH + AF), e o efeito da interação de SH em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), com a presença de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e em condições de estresse salino.

Os **objetivos específicos** da dissertação foram:

- a. Estabelecer a dose vs. resposta de NaCl, na busca da máxima dose que não provoque danos letais ao vegetal;
- b. Isolar e caracterizar espectroscopicamente a substância húmica originária de vermicomposto;
- c. Estabelecer a dose vs. resposta de substância húmica com máximo estímulo de crescimento inicial em plantas de arroz;
- d. Avaliar o efeito da substância húmica em plantas de arroz através de alterações morfológicas das raízes e sobre a fotossíntese;

e. Caracterizar a interação dos FMAs: *Acaulospora mellea*, *Glomus formosanum*, *Rhizoglyphus clarum* e *Glomus* sp. com a SH no crescimento e estabelecimento da simbiose micorrízica em plantas de arroz sob condições de salinidade.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Arroz (*Oryza sativa* L.)

O arroz é uma planta da família das gramíneas, do gênero *Oryza*, que possui em torno de vinte espécies, sendo a mais cultivada a *Oryza sativa* (JULIANO, 1993) por ter sido submetida ao processo evolutivo e de domesticação, se adaptando às condições agroecológicas de cada ambiente, o que contribuiu para que surgissem diversos tipos geneticamente divergentes (PEREIRA et al., 1999).

É uma cultura milenar, cuja qual não se tem certeza se é originária da Índia ou China. Entretanto, sabe-se que por volta de 2800 a.C. era a planta mais sagrada do imperador da China (FLANDRIN; MONTANARI, 1998). Este cereal foi introduzido no Brasil pela frota de Pedro Álvares Cabral, porém seu cultivo em território nacional só foi relatado após 1530, na capitania de São Vicente, espalhando-se posteriormente por outras regiões do litoral, sempre em pequenas lavouras de subsistência, principalmente na região Nordeste (PEREIRA, 2002). Em 1904, no município de Pelotas, localizado no estado do Rio Grande do Sul, surgiu a primeira lavoura empresarial, já instalada a prática de irrigação. Os veículos movidos a vapor, acionavam as bombas de irrigação, facilitando a inundação das lavouras de arroz (PEREIRA, 2002).

Atualmente é um dos cereais mais produzidos e consumidos nos cinco continentes, caracterizando-se como principal alimento de mais da metade da população mundial. Somente na Ásia, de 60 a 70% do consumo calórico de mais de 2 bilhões de pessoas é proveniente do arroz e seus subprodutos (FAO, 2004). Ocupando um ranking de terceiro cereal mais plantado no mundo, ultrapassado somente pelo milho e trigo. China, Índia, Bangladesh e Indonésia respondem por aproximadamente 70% da colheita mundial. O Brasil está entre os dez maiores produtores, o primeiro fora do continente asiático, com cerca de 2% da produção global (DEE, 2018). Em 2015, a FAS/USDA estimou a produção mundial do grão para mais de 475 milhões de toneladas, sendo 8,3 milhões de toneladas produzidas apenas no Brasil.

#### 2.1.2. Importância sócio-econômica

A cadeia orizícola desempenha importante papel na ótica cultural, social e econômica brasileira. Ademais, a cadeia produtiva do arroz apresenta destaque na criação de trabalho e renda para a economia interna, com um parque industrial nacional de beneficiamento altamente desenvolvido. Tratando-se, portanto, de um produto que o país precisará continuar produzindo a fim de suprir a demanda interna por alimentos. Apesar desses pontos fortes do setor, a estrutura de financiamento, as questões tributárias e os problemas logísticos têm dificultado o pleno desenvolvimento da cadeia.

Em um estudo relacionado com a sustentabilidade econômica da cultura do arroz no Brasil, Wander e Silva (2014) concluíram que: (a) os preços nacionais e internacionais do arroz tem oscilado consideravelmente desde 2008; (b) os custos de produção aumentaram em 2006/2007 até 2009/2010, e diminuíram em 2010/2011 e 2011/2012; (c) a rentabilidade do arroz de terras altas foi positiva em todo o período analisado, enquanto que no arroz irrigado, a rentabilidade também foi positiva no período, exceto para safra 2010/2011, quando os preços muito baixos colocaram em risco a sustentabilidade econômica da cultura; e (d) as políticas públicas vigentes para o setor arrozeiro no Brasil atendem, parcialmente, as necessidades do setor. Segundo esses mesmos autores, existem aspectos relacionados aos custos de produção e comercialização, que podem prejudicar a competitividade de longo prazo da cadeia do arroz.



Com base nos dados publicados pela ONU (2012), a população mundial em 2024 será superior a 8 bilhões de pessoas e, em 2050, superior a 9,5 bilhões. Este crescimento deve ocorrer sobretudo em países em desenvolvimento, mais especificamente na Nigéria, República Democrática do Congo, Etiópia e Índia, cujo número médio de filhos vem crescendo de forma acelerada. Além da expansão populacional, a concentração nas cidades e o crescimento da renda devem ampliar a demanda de alimentos.

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), a produção nacional de arroz alcançou 12.071,0 mil toneladas na safra 2017/2018, resultando 2,1% menor em comparação com a colheita obtida em 2016/2017, quando foram colhidas 12.327,8 mil toneladas. Implicando uma redução de 256,8 mil toneladas.

O arroz é o alimento que compõe a cesta básica do brasileiro, com a produção ocorrendo nas cinco regiões do país. A liderança destacada cabe ao Sul (80,7% da produção nacional em 2017/2018), vindo a seguir, com expressiva desvantagem, o Norte (8,8%), Centro-Oeste (5,6%), Nordeste (4,4%) e Sudeste (0,4%).

O Nordeste foi a única região do país em que a produção cresceu na safra de 2017/2018. Porém, a maior produtividade foi obtida no Sul (7.811 kg/hectare), seguido com larga diferença o Norte (4.045 kg/hectare), Centro-Oeste (3.653 kg/hectare), Sudeste (3.611 kg/hectare) e, por último, o Nordeste (2.033 kg/hectare). Os sistemas fundiários, a utilização de modernas tecnologias, como a irrigação artificial e sementes selecionadas, explicam as diferenças de produtividade.

Em relação ao mercado internacional, segundo dados do USDA, a produção mundial de arroz base beneficiado ficou em 501,39 milhões de toneladas na safra 2018/2019, expansão de aproximadamente 5,9 milhões de toneladas em relação à safra 2017/18. De acordo com a Conab, esse resultado foi reflexo principalmente da expectativa de recorde produtivo na Índia e da retomada da produção norte-americana. E no que se refere ao consumo, obteve-se um significativo incremento de 9,4 milhões de toneladas, em meio a um aumento da demanda africana pelo grão.

Segundo colaboradores do Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada da Esalq/USP (Cepea – Esalq/USP, 2019) na comercialização, a formação de preços nacionais para o arroz possui estreita relação com o que ocorre com a produção do arroz nos países do Mercosul, principalmente, Uruguai e Argentina. Com base nos dados da FAS/USDA, os países integrantes produziram cerca de 14,5 milhões de toneladas de arroz em casca (retração de 7,85% em relação à safra anterior), sendo o Brasil responsável por 75,71% da produção. Acerca do consumo, o Brasil destaca-se como o maior mercado consumidor, com uma demanda estimada sempre acima dos 11 milhões de toneladas. Os outros países integrantes do Mercosul não possuem uma forte cultura de consumo do produto, sendo as suas produções, em grande parte, não destinadas ao consumo interno, e sim, ao mercado internacional.

### **2.1.3. Problemas que afetam a produção do arroz no Brasil**

O aumento populacional, as demandas por alimentos e outros recursos indispensáveis à sobrevivência humana, vem provocando importantes impactos na base dos recursos naturais das regiões semiáridas. Nessas regiões os impactos são maiores sobre o solo, o qual sofre com expressivos problemas de salinização, consequência da intensa evapotranspiração, baixas precipitações, má drenagem dos solos e intervenção do homem com a prática de irrigação, muito comum nessa região, devido à ocorrência do déficit hídrico para culturas na época da seca. Tal prática no semiárido nordestino é essencial para garantir a produtividade das culturas, em que consiste em uma importante alternativa de garantir a produção de alimentos mesmo em períodos de escassez de chuvas (FIGUEIRÊDO, 2005).

Num cenário de mudanças climáticas globais, onde previsões meteorológicas apontam aumento da temperatura e alterações em outras variáveis ambientais, como o regime das chuvas, é fundamental o conhecimento dos fatores ecofisiológicos e estudos referentes à adaptação e comportamento das principais culturas agrícolas, que são capazes de desenvolver mecanismos próprios que mitiguem ou tolerem condições de estresses.

A agricultura vem enfrentando um grande problema em todo o mundo com a falta de recursos hídricos adequado, forçando muitos produtores a utilizar água salobra para a irrigação das culturas, ou até mesmo produzirem em meio a escassez de água, o que pode provocar alterações em diversos fenômenos fisiológicos, afetando todo o crescimento e desenvolvimento das plantas. Em muitas áreas de produção, o uso de água de baixa qualidade para irrigação e a aplicação de quantidades excessivas de fertilizantes são as razões elementares para a ocorrência de um dos principais problemas da agricultura, bem como a degradação dos solos pelo aumento da salinidade. Em se tratando de regiões áridas e semiáridas irrigadas, constitui uma das maiores adversidades, culminando na limitação da produção agrícola e na redução da produtividade das culturas a níveis anti-econômicos.

Apesar dos efeitos benéficos do cultivo em curto prazo, segundo Vasconcelos (2014), à longo prazo o cultivo intensivo, em áreas irrigadas, provoca aumento na densidade do solo, devido principalmente ao tráfego intensivo de máquinas e ao baixo teor de matéria orgânica, tão necessária na manutenção da estrutura dos agregados do solo. O resultado imediato desse aumento de densidade é a compactação, capaz de promover modificações nas características físicas do solo, apresentando um risco maior em solos irrigados, devido às condições de umidades nesses sistemas; essa umidade atua no interior do solo, aproximando as partículas do mesmo. Os principais atributos físicos que refletem a compactação são: a porosidade, a distribuição do tamanho dos poros e a estrutura do solo (SILVA et al., 2007). Corroborado por Rhoades e seus colaboradores (2000), que dissertaram sobre os impactos negativos no solo provocados pela salinização bem como: a alteração e aumento da densidade aparente e da retenção de água no solo, diminuição da infiltração de água pelo excesso de íons sódicos e redução da fertilidade físico-química. Já nas plantas, segundo Dias & Blanco (2010), podem ser provocados por dificuldades na absorção de água, danos causados por íons específicos e pela influência dos sais nos processos fisiológicos (efeitos indiretos) diminuindo o crescimento e desenvolvimento das plantas.

A interferência prática da salinidade no solo sobretudo é a perda da fertilidade e a susceptibilidade à erosão, além da contaminação do lençol freático e das reservas hídricas subterrâneas. Nas plantas, estes efeitos implicam na perda de produtividade e de qualidade, ou perda total da produção. *Feedbacks* e adaptações à estresses abióticos foram largamente estudadas por Taiz e Zeiger (2010), que discutiram sobre uma diversidade de aspectos fundamentais referentes ao tema como a adaptação e plasticidade fenotípica, o ambiente abiótico e o impacto biológico nos vegetais, a influência do clima e solo no crescimento das plantas, déficit hídrico e resistência à seca, ajuste osmótico vegetal em solo seco para acumular solutos, estresse e choque térmico, estresse pela salinidade e falta de oxigênio, dentre tantos outros.

O fator ambiental clima, de acordo com Larcher (2004), estabelece as condições para o crescimento da planta e sua área de distribuição, impondo limites para sua sobrevivência. O clima pode ser entendido como as condições médias e corriqueiras de tempo de uma determinada região. O termo recorrente é bioclima, que corresponde o microclima ao redor de onde as plantas se desenvolvem: compreendendo o limite das superfícies das partes aéreas até onde as raízes se prolongam no solo. É um clima característico, determinado pela estrutura e o próprio funcionamento da comunidade vegetal (Dias, 20018). Este mesmo autor, relatou que todas as plantas crescem e se desenvolvem em um emaranhado ambiental que abrange múltiplos fatores abióticos, químicos ou físicos, com grande variação de tempo e localização geográfica.

Os fatores abióticos incluem qualidade do ar, vento, intensidade e qualidade de luz, temperatura, água, concentração de elementos nutricionais, potencial hidrogeniônico (pH) e potencial redox. Oscilações nesses fatores além de taxas normais têm decorrências químicas e fisiológicas negativas para as plantas. As mesmas no decorrer do seu processo evolutivo desenvolveram mecanismos que garantem sua sobrevivência e, frequentemente, obtêm sucesso frente a um complexo ambiental a qual são submetidas. Adaptação ao ambiente é caracterizada como mudanças genéticas dentro a população em que foi exposta à seleção natural por muitas gerações. Ademais, também podem responder de maneira individual às mudanças no ambiente por alterar diretamente sua fisiologia e morfologia para conseguir resistir melhor ao novo ambiente. Tais modificações não requerem novas mudanças genéticas e, caso essa resposta genética individual melhora com repetidas exposições à nova condição ambiental, esse *feedback* é denominado de aclimação. De acordo com Dias (2018), a adaptação e plasticidade fenotípica podem colaborar para que as plantas desenvolvam tolerância aos extremos no ambiente abiótico.

O clima e as condições edáficas (relacionadas ao solo) têm um amplo impacto no vegetal, que abrange seu crescimento, desenvolvimento, reprodução e sobrevivência. Com base nos fatores climáticos que acometem a homeostase fisiológica, pode-se incluir os gases atmosféricos, luz, temperatura, umidade, precipitação e vento. A humanidade detém a capacidade de influenciar negativamente o clima de diversas formas: por reduzir água disponível, pelo aumento do nível de gases do efeito estufa na atmosfera, através de gases poluentes do ar e dentre tantas outras. Os fatores abióticos podem também interferir um no outro, bem como: alta taxa de luminosidade implica na elevação da temperatura do ar, os ventos regulam a temperatura através da evaporação e os oceanos, normalmente, modulam a temperatura atmosférica e tempestades. As condições climáticas podem variar, periodicamente, em um determinado ecossistema. As variações podem ser graduais e previstas ou abruptas e intermitentes.

Outro ponto de extrema relevância em um sistema de irrigação, está intimamente associado a qualidade da água para a realização de tal prática, que relacionada às condições climáticas da região, geram um problema muito frequente nos perímetros irrigados do nordeste brasileiro, a salinidade. A produtividade da cultura, limitada pela água, depende da quantidade e qualidade disponível deste recurso e da eficiência do seu uso pelo vegetal. Uma planta capaz de obter mais água ou que tem maior eficiência no seu uso resistirá melhor à seca. Algumas plantas possuem suas apropriações, como os tipos fotossintéticos C<sub>4</sub> e CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), que lhes permitem explorar ambientes mais áridos. Essas plantas exibem mecanismos de aclimação que são ativados em respostas ao estresse hídrico. Entretanto, o arroz é definido por sua via fotossintética C<sub>3</sub> caracterizada por apresentar dificuldades em crescer em regiões muito quentes pois, seu processo metabólico desencadeia o fenômeno de fotorrespiração provocando um desperdício energético da planta que limita seu crescimento. E, principalmente, o arroz de sequeiro, hoje classificado como de terras altas é totalmente dependente das oscilações climáticas (SANTANA et al., 2004). Embora a cultura do arroz de sequeiro seja pouco exigente em insumos, vem-se buscando a adoção de novas técnicas que permita garantir consideráveis níveis produtivos à cultura, provavelmente em decorrência do processo de modernização e racionalização da agricultura, o manejo com uma adubação adequada, assim como outros fatores, tem sido integrado especialmente para o aumento da produtividade (FAGÉRIA et al., 2001).

## 2.2. Salinidade

A salinização ocorre pelo fato da irrigação conter sais dissolvidos que, mesmo estando em baixas concentrações, podem ser agregados ao solo, tornando-o salino em poucos anos (AGUIAR NETTO et al., 2007). Esses sais se acumulam no solo provocando mudanças nas suas propriedades físicas e químicas, modificando o conteúdo de bases trocáveis no solo.

Nas regiões secas e em países em desenvolvimento, a água possui um valor estratégico para o desenvolvimento econômico e social. Alguns autores, assim como LACERDA & OLIVEIRA (2007) analisaram que a atividade dos perímetros irrigados no sertão do estado do Ceará, aumentam os índices de qualidade de vida. No entanto, é de máxima relevância desenvolver estratégias de gerenciamento dos recursos hídricos que atendam a demanda do abastecimento e maximizem a produção por meio da agricultura irrigada (OLIVEIRA & LANNA, 1997). Assim como técnicas de gerenciamento que lidem com as consideráveis mudanças climáticas (GONDIN et al., 2017; DOMINGUES et al., 2011).

A região semiárida do Nordeste brasileiro tem como característica principal a irregularidade dos períodos de chuva, o que dificulta a implantação de uma das atividades predominantes nessa região, a agricultura. Entretanto, essa realidade começou a ser solucionada com a expansão da modernidade no campo entre os anos de 1968 e 1992, com a implantação dos Perímetros Irrigados (PI), através do critério de disponibilidade de água e solos favoráveis ao desenvolvimento da irrigação conforme a potencialidade para represar as águas (REBOUÇAS, 1997; PONTES et al., 2003).

Os benefícios trazidos pela inserção dos perímetros irrigados no semiárido são incontestáveis, todavia quando má empregada pode acarretar o surgimento de problemas como a salinização/sodificação, provocando a destruição da estrutura do solo. A presença de sais em excesso no solo pode provocar “[...] danos inerentes à estrutura como a dispersão de colóides e a formação de estratos impermeáveis, decorrentes da precipitação de carbonatos e silicatos, com reflexos indesejáveis no arejamento e na taxa de infiltração da água no perfil” (FERREIRA et al., 2010). Essas alterações na estrutura do solo podem interferir nas condições necessárias para que se tenha o pleno desenvolvimento do vegetal, refletindo negativamente na produtividade das culturas comerciais. Corroborado por outros autores na literatura que dissertaram sobre a presença dos sais no solo e na água de irrigação que são capazes de reduzir a disponibilidade da água para as plantas, ao ponto de afetarem os rendimentos das culturas (SANTANA et al., 2007).

Ainda segundo Ferreira e colaboradores (2010), os sais solúveis mais comuns na solução do solo de regiões semiáridas são: sódio ( $\text{Na}^+$ ), cálcio ( $\text{Ca}^+$ ), magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ), cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), borato ( $\text{BO}_3^{3-}$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). O acúmulo desses sais advém em condições imperfeitas de drenagem, baixa precipitação pluvial, elevada evapotranspiração e existência de camadas impermeáveis no solo (RIBEIRO, 2010). O excesso de íons de sódio ( $\text{Na}^+$ ) na solução do solo desencadeia outro processo comum em áreas salinizadas, a sodificação, que resulta na formação de solos sódicos. O uso intensivo do solo, além de promover alterações físicas, como a compactação, pode contribuir para um problema sério e comum em perímetros irrigados, principalmente em solos tropicais e com condições inadequadas de drenagem, a salinização dos solos. Outro fator a se considerar é a manutenção da qualidade química do solo, pois o cultivo intensivo retira uma grande quantidade de nutrientes do solo, e considerando o uso de monocultura, frequentemente utilizada em grandes áreas de cultivo, agrava ainda mais as condições químicas dos solos irrigados. O aumento dos teores de sais ocorre quando a irrigação é feita com água de baixa qualidade, cuja mesma apresenta altos teores de sais, que associado ao clima quente e a deficiência de drenagem do solo, propicia a salinização das áreas irrigadas.

A forma mais prática de monitorar a salinidade, segundo Holanda e colaboradores (2016), seja pelo solo ou pela água, é através da condutividade elétrica (CE), por permitir a quantidade

de sais solúveis, visto que a quantidade de íons presentes na água é diretamente proporcional a corrente elétrica. Outra vantagem é por se caracterizar como uma determinação rápida, simples e de baixo custo.

A razão de adsorção de sódio (RAS) também tem sido bastante adotada como parâmetro de qualidade da água, por expressar a razão de sódio em relação ao cálcio e magnésio. A RAS é utilizada como critério para quantificar o risco de sodificação do solo.

Tomando como base a CE e RAS é possível classificar a água de irrigação quanto a restrição de uso, utilizando a classificação proposta pelo United States Department of Agricultural (USDA), apresentada por Richards (1954), sendo essa a classificação mais utilizada (Tabela 1).

**Tabela 1.** Classificação da água proposta pelo United States Department of Agricultural (USDA), apresentada por Richards (1954).

CRITÉRIOS PARA CLASSIFICAÇÃO DA ÁGUA					
Salinidade			Sodicidade		
Cla	Ris	CE (dSm-1)	Cla	Ris	RAS
C1	B	<0,25	S1	B	RAS <18,87 - 4,4 log CE
C2	M	0,25-0,75	S2	M	18,87-4,44 logCE <RAS<31,31-6,66 logCE
C3	A	0,75-2,25	S3	A	31,31-6,66 logCE<RAS<43,75-8,87 logCE
C4	MA	>2,25	S4	MA	RAS>43,75-8,87 logCE

Cla – classe, Ris – risco, CE – condutividade elétrica, RAS – razão de adsorção de sódio, B – baixo, M – médio, A – alto, MA – muito alto  
Fonte: Silva et al., (2018); adaptado.

A classificação de acordo com o conteúdo iônico dominante tem ganhado relevância nos últimos anos, pois possibilita qualificar a água quimicamente em determinados grupos, facilitando a tomada de decisão sobre o manejo a ser adotado.

Baseado no diagrama de Piper com auxílio do software QualiGraf, é possível classificar a água quimicamente em: magnesianas, cálcicas, sódicas, sulfetadas, bicarbonatadas, cloretadas, sulfatadas, cloretadas/cálcicas ou magnesianas, bicarbonatadas cálcicas, bicarbonatadas sódicas, sulfatadas/cloretadas sódicas e mistas. Todavia, essa classificação apresenta um custo oneroso para adquirir todos os parâmetros químicos da água que são necessários para construir o diagrama de Piper.

As classificações da água quanto ao risco de salinização e sodificação do solo são viáveis por sua praticidade e custos acessíveis, contudo, ao se implantar a irrigação torna-se necessário a avaliação de mais parâmetros, para que se adote a melhor forma de manejo dessa água, devido à complexidade dos sais sob a planta, o sistema de irrigação e o solo.

### 2.2.1. Efeitos dos sais nos aspectos físicos do solo

Nos perímetros irrigados, impera o uso intensivo do solo, com a finalidade de buscar a máxima produtividade, sem intervalos amplos entre um cultivo e outro, como ocorre na agricultura de sequeiro. A cada introdução de cultura na área geralmente são realizadas operações de preparo do solo, e por ocorrerem com mais frequências, esses solos ficam mais expostos a modificações físicas em sua estrutura, elevando o seu estado de compactação. E é essa compactação, resultante do manejo de maquinário agrícola em solos sob condições de umidade inadequada, do impacto das gotas de água da irrigação sobre o solo, do excesso de sais, recorrentes em áreas irrigadas, associados aos baixos teores de matéria orgânica típico de solos tropicais (VASCONCELOS, 2014).

A análise da estrutura do solo em áreas irrigadas é essencial, pois influencia diretamente nas propriedades físicas do solo, como aeração, retenção de água, capacidade térmica e resistência mecânica (MICHELON, 2005). Além destas, a densidade do solo, que está atrelada ao processo de compactação, a condutividade hidráulica, a capacidade de infiltração, dentre outras são tão importantes quanto as anteriores. Essas alterações na estrutura do solo podem interferir nas condições necessárias para que se tenha um bom desenvolvimento das plantas, refletindo negativamente na produtividade das culturas comerciais. Para Sanchez (2012), o solo é a peça principal de um sistema agrícola, e as modificações nos seus atributos impactam a sustentação do crescimento vegetal, e, por conseguinte, o rendimento das culturas, acarretando em prejuízos para o produtor rural.

A compactação é o principal fator que causa mudanças nas propriedades físicas do solo e apresenta uma ameaça maior em solos irrigados, devido às condições de umidade serem elevadas nesses sistemas. As principais particularidades físicas que refletem a compactação são: a porosidade, a distribuição do tamanho dos poros e a estrutura do solo (SILVA et al., 2007). Essa mesma compactação é capaz de modificar o arranjo das partículas, reduzindo o volume dos seus poros, restringindo assim, a absorção de água e nutrientes pelas plantas interferindo ainda, no crescimento radicular, por elevar a resistência mecânica à penetração das raízes (SILVA et al., 2001).

Alguns sais presentes na água de irrigação, podem provocar mudanças na estrutura do solo, mais precisamente o sódio ( $\text{Na}^+$ ), esse elemento é capaz de promover a dispersão das partículas argila, tornando o solo pulverizado, provocando entupimentos nos microporos, redução da aeração e infiltração de água (GASPARETTO et al., 2009), bem como o aumento da resistência mecânica desses solos, dificultando a germinação de sementes e o desenvolvimento de raízes, devido a subcompactação superficial, ocasionada pela deposição da argila para camadas inferiores.

Diversos autores, assim como Medeiros et al., (2003), salientou que além dos cuidados com a compactação e erosão, que são consequências das alterações físicas na estrutura do solo advindas de um manejo inadequado da irrigação, há um outro problema muito recorrente em áreas irrigadas, solos com má drenagem, logo, o processo de salinização pode ser acelerado pelo uso da irrigação com água contendo altas concentrações de sais.

### **2.2.2. Efeitos dos sais nos aspectos químicos do solo**

O acúmulo desses sais além de interferir nos atributos físicos dos solos, influencia também as características químicas, propiciando alterações no pH, afetando a disponibilidade da maioria dos nutrientes essenciais no solo e, conseqüentemente, as suas propriedades biológicas. Além de afetar o pH, a salinidade infere nas taxas de mineralização do nitrogênio (N), em conformidade com Gloaguen e colaboradores (2009) ao demonstrarem que o aumento da salinidade gera um decréscimo da taxa de mineralização do N orgânico do solo.

As particularidades químicas do solo estão intimamente atreladas ao pH, pois este é capaz de inferir na disponibilidade da maioria dos nutrientes essenciais no solo. O pH de solos salinos pode variar da faixa ácida até a faixa alcalina (SILVA et al., 2005). Ainda que exista essa variação que abrange o pH ácido para solos salinos, uma das peculiaridades desses solos é o pH alcalino, demonstrado por Aguiar Netto e colaboradores (2007), em que o pH foi correlacionado de forma significativa com a porcentagem de sódio trocável, atingindo valores acima de 9,5. Quando o pH é ligeiramente alcalino, tendendo a alcalino, o desenvolvimento das culturas pode ser prejudicado devido à baixa disponibilidade do fósforo e/ou dos micronutrientes como ferro, manganês, cobre e zinco (CHAVES et al., 1998). Existem trabalhos relatando que a irrigação pode causar acidificação dos solos, sendo justificado pela redução do conteúdo de bases

trocáveis, mesmo a alcalinidade sendo uma peculiaridade dos solos salinos (SANTOS & RIBEIRO, 2002). Todavia, isto está muito relacionado a escolha do manejo adotado nas áreas.

Ainda de acordo com Chaves e colaboradores (1998), além do pH, a sutil presença de sais no solo reduz a absorção de água pelas raízes, devido aos efeitos do potencial osmótico sobre as raízes das plantas, afetando negativamente o desenvolvimento vegetal.

As alterações químicas que ocorrem em solos salinos sob sistema de irrigação, também podem ser resultantes das modificações físicas promovidas pelo excesso de sais no solo. Os solos salinos apresentam como característica físico-hídricas: baixa permeabilidade, baixa condutividade hidráulica e instabilidade dos agregados. O Na<sup>+</sup> é um dos elementos que mais promove a desestruturação do solo, influenciando negativamente o fluxo de água deste aumentando assim, as chances de erosão que é capaz de carrear as partículas ativas do solo (argila) responsável por sua fertilidade, levando consigo nutrientes minerais, gerando um solo pobre, degradado quimicamente. E Cavichiolo (2005), confirma que a erosão hídrica tem como principal consequência as perdas de solo, água e nutrientes, em que contribui para a redução de sua fertilidade.

A compactação, além de influenciar as alterações físicas e químicas, é capaz de modificar negativamente as propriedades biológicas de um solo, uma vez que qualquer mudança física decorrente de um processo de compactação é suficiente para transformar os microhabitats compostos por microrganismos, impossibilitando a eficácia do seu potencial na ciclagem de nutrientes (PUPIN, 2008).

A extenuação do solo pelo cultivo intensivo em áreas de perímetros irrigados é outro fator que contribui na qualidade química. Para Santos & Ribeiro (2002), as propriedades químicas mais impactadas com esse tipo de manejo são a capacidade de troca catiônica, condutividade elétrica, pH e matéria orgânica.

### **2.2.3. Efeitos dos sais na planta: efeito osmótico**

São inúmeros os efeitos dos sais sobre as plantas, sejam eles diretos ou indiretos. O primeiro efeito seria a redução do potencial de água do solo, uma vez que, à medida que se adiciona água salina ao solo, o potencial osmótico passa de desprezível para compor uma fração considerável do potencial total de água no solo (DUARTE e SOUZA, 2016).

As plantas retiram água do solo quando as forças de absorção dos tecidos das raízes são superiores às forças com que a água é retirada do solo. A presença de sais na solução do solo faz com que haja um aumento das forças de retenção através do efeito osmótico e, assim, culmine no problema de escassez de água na planta. O aumento da pressão osmótica causado pelo excesso de sais solúveis pode atingir um nível em que as plantas não tenham forças de sucção suficiente para superar essa pressão e, por conseguinte, a planta não absorverá água, mesmo em um solo aparentemente úmido gerando então, a seca fisiológica. Muitas vezes, dependendo do nível de salinidade, há a possibilidade da planta perder a água contida no seu interior. Quando isto ocorre, denomina-se plasmólise, caracterizada por ser um fenômeno em que uma célula vegetal é submetida a uma solução altamente concentrada, e a água presente nesta célula move-se para a solução.

A salinidade do solo reduz a disponibilidade de água no mesmo. Entretanto, nem todas as culturas são igualmente afetadas pelo mesmo nível de salinidade, pois algumas são mais tolerantes que outras e podem retirar a água que necessitam com mais facilidade. Com base na resposta aos sais, as plantas são classificadas em glicófitas e halófitas. As glicófitas representam o grupo das plantas cultivadas e, na sua maioria, são as menos tolerantes à ação dos sais, em contrapartida, as halófitas compõem o grupo de plantas que adquirem condições fisiológicas, sendo assim, ajustam-se osmoticamente e sobrevivem em meio altamente salino.

As plantas que são mais tolerantes a um ambiente salino tendem a aumentar a concentração salina no seu interior, fazendo com que se prevaleça um gradiente osmótico favorável para a absorção de água pelas raízes, isto é, realizam o ajuste osmótico que se dá pelo acúmulo dos íons absorvidos nos vacúolos das células foliares, mantendo a concentração salina no citoplasma em baixos níveis, de modo que não ocorra a interferência com os mecanismos enzimáticos e metabólicos, tampouco, com a hidratação de proteínas das células. Esta compartimentação do sal é que possibilitam as plantas tolerantes, viverem em ambientes salinos (LAUCHI & EPSTEIN, 1984), entretanto, as plantas sensíveis à salinidade tendem a excluir os sais na solução do solo, mas não apresentam mecanismos ecofisiológicos que permita realizar o ajuste osmótico, e assim, sofrem com o decréscimo de turgor, acarretando em um estresse hídrico na planta por osmose. Ainda de acordo com esses autores, para esse ajuste osmótico, na membrana que separa o citoplasma e o vacúolo não há fluxo de um compartimento para outro, mesmo que ocorra um elevado gradiente de concentração, pois o mesmo é obtido através de substâncias compatíveis com as enzimas e metabólitos presentes. Esse ajustamento ocorre pelo acúmulo de prolina, carboidratos solúveis, entre outros solutos compatíveis no tecido vegetal (RODRÍGUEZ et al., 2009). Por meio desse acúmulo, as plantas conseguem deixar o seu potencial hídrico menor que o do solo viabilizando a absorção de água, entretanto, as plantas têm um gasto excessivo de energia para realização desse ajuste.

Para Dias & Blanco (2010), embora o crescimento da parte aérea das plantas se reduza com o aumento da concentração salina do meio onde vivem, o fato de ocorrer a diminuição da absorção de água não é necessariamente a causa principal do reduzido crescimento das plantas em ambientes salinos. Outra forma de resposta das plantas ao estresse salino é por meio do fechamento estomático, uma vez que ao diminuir a transpiração mantém o status hídrico da planta (TAIZ et al., 2017). Não obstante, o fechamento estomático induz a uma redução na assimilação de CO<sub>2</sub>, o que justifica o menor crescimento da planta, menor acúmulo de biomassa, uma menor assimilação de CO<sub>2</sub> promove redução na velocidade do Ciclo de Calvin (por entrar menos CO<sub>2</sub> no mesófilo foliar), resultando uma sobra de elétrons derivados da etapa fotoquímica da fotossíntese, podendo gerar as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), visto que os elétrons livres se ligam ao oxigênio (SILVA et al., 2010).

Kramer (1983) apontou que as plantas que se desenvolvem em substratos salinos mantêm seu turgor e ressalta ainda, que a suculência é uma peculiaridade entre as halófitas. Isto sugere que essas plantas não perdem água por salinidade como se estivessem em solos e ambientes secos e também não consigam se recuperar, como é o caso de plantas estressadas por falta de água, ao receberem água novamente. Plantas muito sensíveis à salinidade também absorve água do solo junto com os sais possibilitando a toxidez na planta por excesso de sal absorvido. Este acúmulo propicia o desequilíbrio no citoplasma resultando em danos, principalmente, na bordadura e no ápice das folhas, que é onde a planta perde por transpiração, uma grande quantidade de água, havendo com isso, nestas regiões acúmulo do sal translocado do solo para a planta e, portanto, intensa toxidez de sais.

#### **2.2.4. Toxidez**

Os sais também podem apresentar toxidez específica oriunda de alguns íons como, por exemplo: cloreto, boro e sódio. Os danos provocados por esta toxidez podem reduzir significativamente os rendimentos e sua magnitude depende do tempo, da concentração dos íons, da tolerância das plantas e do uso da água pelas culturas implantadas (SOUSA et al., 2011).

Os problemas de toxicidade frequentemente acompanham ou até mesmo agravam os de salinidade e permeabilidade, podendo surgir mesmo em baixas concentrações de sais. Os sintomas podem aparecer em qualquer cultura, desde que as concentrações de sais no interior



sejam suficientemente elevadas ou acima dos níveis de tolerância suportados pela cultura (DIAS et al., 2016). Na grande maioria dos casos, a toxicidade é provocada pelos íons cloreto, sódio e boro; no entanto, muitos outros oligoelementos são tóxicos às plantas, mesmo em baixas doses.

O acúmulo de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  em tecidos vegetais, de acordo com Cavalcante et al. (2010), acarretam em toxicidade iônica, pois geram mudanças nas relações  $\text{Na/K}$ ,  $\text{Na/Ca}$ , e  $\text{Cl/NO}$ , acarretando desde reduções no desenvolvimento até morte das plantas. Todavia, Miranda et al. (2002), verificaram que a aplicação de Si juntamente com a de  $\text{NaCl}$ , aumentou os teores foliares de K e Ca e reduziu os de Cl e Na, evidenciadas pela redução nas relações  $\text{Na/K}$ ,  $\text{Na/Ca}$  e  $\text{Na/Mg}$  em plantas de moringa.

A absorção foliar acelera a velocidade de acumulação de sais dos íons tóxicos na planta sendo a principal fonte de toxicidade. Os íons sódio e cloreto podem ser absorvidos via foliar a partir do manejo com irrigação por aspersão e, sobretudo, durante períodos de altas temperaturas e baixa umidade. O mecanismo de ação desses íons dá-se pela seguinte forma: o cloreto, não é retido, tampouco adsorvido pelas partículas do solo, deslocando-se facilmente com a água do solo, mas é absorvido pelas raízes e translocado às folhas, onde se acumulam através da transpiração. O primeiro sintoma deste íon, evidenciado pelas plantas, é a queimadura do ápice das folhas que, em estágios avançados, atingem as bordas e estimula sua queda prematura (senescência foliar). A clorose e queima das folhas devido à toxicidade da salinidade pode ser consequência de alterações no balanço hormonal, redução generalizada da atividade metabólica da planta e da perda da turgescência das células guarda (FERREIRA et al., 2001). Já o íon sódio, é mais difícil de diagnosticar que o cloreto, no entanto, tem sido identificado nitidamente como resultado de alta proporção de sódio na água (alto teor de sódio ou RAS). A toxidez por este íon apresenta sintomas em forma de queimadura ou necrose ao longo das bordas. As concentrações deste elemento nas folhas alcançam níveis tóxicos após vários dias ou semanas e, então, os sintomas aparecem nas folhas mais velhas e em suas bordas, ao passo que o problema se intensifica, a necrose se espalha progressivamente na área internervural até o centro das folhas.

Outros danos mais encontrados na literatura são a inibição no crescimento do sistema radicular sob condições salinas atribuída à redução da fotossíntese (NASCIMENTO et al., 2011), adiamento no desenvolvimento de gemas apicais, redução do número de folhas (OLIVEIRA, 2006), manchas avermelhadas com posterior amarelecimento das folhas mais velhas, queima das bordas e ápice do limbo e queda das folhas em estágios mais avançados (MELLONI et al., 2000).

### **2.2.5. Mecanismos de tolerância**

A redução do crescimento da planta devido ao estresse salino pode estar atrelada com os efeitos adversos do excesso de sais sob homeostase iônica, balanço hídrico, nutrição mineral e metabolismo de carbono fotossintético (Zhu, 2001; Munns, 2002).

Existem diferentes mecanismos de tolerância das plantas à salinidade. Tester e Davenport (2003) sugerem a existência de dois grupos de mecanismos de tolerância: (1) tolerância individual das células, envolvendo, por exemplo, a compartimentação intracelular e a sinalização bioquímica, e (2) tolerância a um nível superior em relação ao grupo anterior, englobando, por exemplo, o controle da absorção e transporte interno de sais e o acúmulo de sódio no interior da planta.

Para Munns e colaboradores (2002), uma das estratégias mais adotadas pelas plantas é a extrusão do sódio para a solução do solo retirando o cátion da planta e a expulsão do  $\text{Na}^+$  de alguns tecidos, especialmente o xilema, como forma de evitar o acúmulo do cátion no limbo

foliar, minimizando os efeitos letais provocados pela salinidade sobre o metabolismo foliar, em especial sobre o processo fotossintético.

### **2.3. Matéria Orgânica do Solo e sua importância**

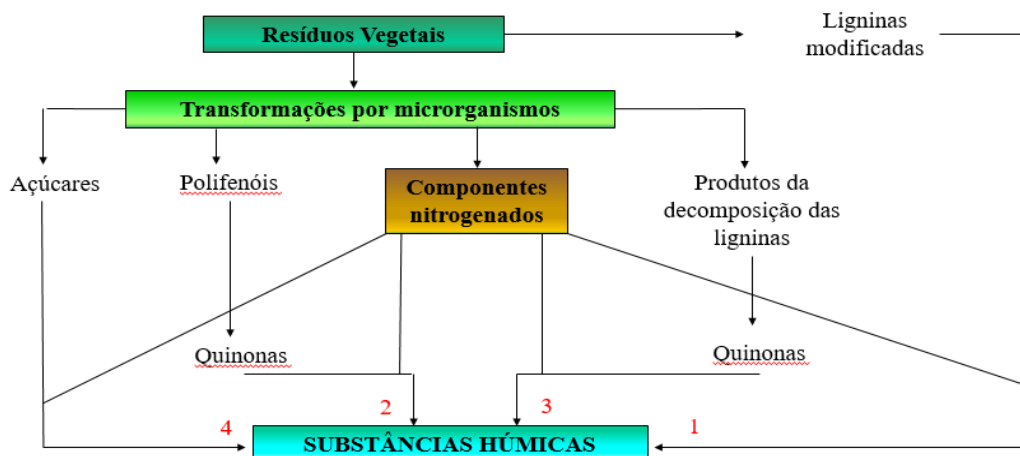
A matéria orgânica do solo (MOS) presente nos solos, turfas e sedimentos consiste de um material biológico podendo ser encontrada no solo em diferentes estados de conservação oriundos da dinâmica do meio vivo e interações com o meio mineral, os fatores ambientais e tipo de solo (LABRADOR, 2012). Os vivos são raízes de plantas e organismo do solo, constituindo aproximadamente 4% do total. Os integrantes do meio mineral representam a matéria macrorrgânica, formada de resíduos de plantas em decomposição, as substâncias humificadas e as não humificadas. Sabe-se que a MOS é composta pelo maior reservatório de carbono da superfície terrestre e que é dinâmico, podendo variar em virtude da prática de manejo. Essa matéria orgânica é classificada como húmus ou substâncias húmicas (SH) e substância não húmica.

Para Stevenson (1994), a diferenciação entre substâncias não húmicas e húmicas está baseada na natureza definida das substâncias não húmicas, bem como: aminoácidos, carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos, entretanto, as substâncias húmicas são de estrutura química indefinida formando uma combinação de compostos.

A importância da adição e conservação da MOS nos solos bastante intemperizados como no semiárido do Nordeste brasileiro, provém do baixo teor, associada ao baixo pH do solo devido à presença de óxidos de alumínio. Em contrapartida, nos sistemas agrícolas onde não há entrada de nutrientes de fontes externas, a matéria orgânica é a principal fonte de nutrientes, como ocorre na agricultura de subsistência da região semiárida (TIESSEN et al., 2001). O manejo da MOS em solos com baixo pH e reduzida fertilidade natural, possibilita o aumento da capacidade de troca catiônica e aniônica (CTC E CTA, respectivamente), acelera a correção da acidez e fornece nutrientes às plantas (SANTOS et al., 2002), apresentando-se como uma medida de extrema relevância para a obtenção de melhorias das propriedades físicas, químicas e biológicas dos solos dessa região, reduzindo as perdas de nutrientes por lixiviação (TAN, 2011). Esta capacidade da MO de interferir nas propriedades do solo, proporciona seu uso como um indicador de sua qualidade e as frações humificadas são apontadas como um marcador químico estável da história do solo (CANELLAS & FAÇANHA, 2004).

#### **2.3.1. Substâncias Húmicas, Origem, Formação e Estrutura**

Diversas são as teorias sobre a formação das SH. Pelo menos quatro principais vias possíveis para a formação das substâncias húmicas durante a decomposição de resíduos no solo são consideradas (Figura 1). O principal processo é a oxidação de substratos hidrolisados monoméricos, formando polímeros macromoleculares de coloração mais ou menos escura e elevada massa molar. As quatro vias podem ocorrer simultaneamente no solo, no entanto, com extensões e importância diferentes (ROCHA & ROSA, 2003). Experimentos relacionados com a síntese de compostos de coloração escura, similares às SH, resultaram no surgimento do conceito de *humificação* preconizando a formação das SH como o produto dos estágios de decomposição microbológica da matéria orgânica.



**Figura 1.** Principais vias propostas para formação das substâncias húmicas (STEVENSON, 1982).  
Fonte: Extraído de Vaz (2006), adaptado.

O mecanismo 1 representa a teoria clássica, em que as SH seriam derivadas de ligninas modificadas. Os mecanismos 2 e 3 envolvem a participação de quinonas. E o mecanismo 4 propõe a formação dos húmus a partir da polimerização não enzimática por condensação entre aminoácidos e açúcares formados como subprodutos da atividade microbiana (ROCHA & ROSA, 2003).

A via de degradação da lignina pode processar com mais predominância em solos mal drenados e em áreas hidromórficas, enquanto a síntese a partir de polifenóis, pode ser importante em certos solos sob florestas. Em virtude da rápida degradação e assimilação biológica dos açúcares, a teoria de condensação de aminoácidos é válida principalmente para ambientes de baixa atividade biológica (CARDOSO et al., 1992).

Malcolm & Bloom (1990) afirmou que a lignina não é o principal precursor de SH do solo. Além disso, mostra que há grandes diferenças estruturais entre substâncias húmicas de diferentes origens, como de solo, rios e mar.

As 2ª e 3ª vias são a base das teorias dos polifenóis, as duas vias são muito semelhantes e só variam na fonte de polifenóis. Na 3ª via, a lignina constitui um papel relevante, porém de forma diferente, em que os aldeídos fenólicos e ácidos liberados da lignina pela ação microbológica são convertidos enzimaticamente em quinonas, estas são polimerizadas na ausência/presença de compostos amino para formar moléculas semelhantes às SH. A 2ª via é similar à 3ª com a diferença que os polifenóis são sintetizados por microrganismos das fontes de C não lignínicas como a celulose, e oxidados enzimaticamente em quinonas e posteriormente convertidos em SH (PINOS, 2018).

Ainda que todas as vias possam ser consideradas como mecanismos de síntese de substâncias húmicas, na natureza não vão ocorrer na mesma intensidade ou ordem de importância, podendo sobressair uma em relação a outra em função das características próprias de cada solo e ambiente. E são estes mecanismos que interferem na complexidade e heterogeneidade estrutural

das SH e que não permitem a definição do modelo único estrutural genérico, apesar de existirem diversas propostas estruturais (STEVENSON., 1985; SENESI et al., 1989; STEVENSON., 1994; HAYES., 1997).

Recentes estudos de Piccolo e colaboradores (2000), baseados em cromatografia e utilizando eletroforese capilar têm sugerido um novo conceito a respeito das características estruturais das SH. Neste caso, as SH não possuiriam estrutura extremamente complexa e seriam formadas pela agregação de pequenas moléculas. A referência da estrutura das substâncias húmicas tem permanecido, enquanto novos procedimentos analíticos e desenvolvimentos especialmente na área de espectroscopia têm sido aprimorados visando a obtenção de resultados mais contundentes os quais suportem as hipóteses propostas (PICCOLO, 2000; STEVENSON, 1994).

Mesmo com as contradições existentes quanto ao modelo estrutural, algumas características das SH já estão bem definidas, a classificação das diferentes frações baseia-se em suas características de solubilidade, subdividindo-se em três frações principais: (1) os ácidos húmicos definidos como a fração das SH solúvel em meio alcalino diluído e que precipita pela acidificação do extrato alcalino. (2) os ácidos fúlvicos que permanecem em solução quando o extrato alcalino é acidificado e (3) a humina que é a fração não extraída por ácido ou álcali diluído (HAYES, 2011).

Tendo em vista a versatilidade na composição das SH, devido ao tipo de material, é necessário adotar de mais de um método analítico visando obter uma caracterização mais completa. Dentre os mais comuns destacam-se: a determinação de carbono orgânico das SH e suas frações, possibilitando obter as relações entre suas frações ( $C_{AH}/C_{AF}$ ) que indicam a mobilidade do carbono no solo, os valores maiores que 1 são indicador de maior estabilidade das SH e solos mais ricos em AH, como em ambientes temperados e naturalmente férteis, todavia, nas regiões tropicais os solos mais intemperizados tem menor razão  $C_{AH}/C_{AF}$  (PINOS, 2018).

Análise elementar que determina o conteúdo de C, H, O, N e S das relações atômicas H/C, O/C, O/H e C/N são essenciais para identificar os tipos de SH e suas frações, verificar as alterações na estrutura e estabelecer separações entre as SH. Valores H/C e O/C de 1 e 0,4, respectivamente, são típicos de ácido húmico; já valores de 1,4 e 0,7 são comuns para ácido fúlvico. As condições de drenagem do solo, segundo Silva e colaboradores (2009), também desempenham um fator determinante nas relações C/N e O/C atribuindo variações de acordo com a drenagem presente no local e predomínio de AF em alguns tipos de solos em condições de drenagem moderada.

Técnicas espectroscópicas, bem como a espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) obtêm informações sobre a estrutura química dos compostos orgânicos que compõem as SH: (a) grupos funcionais: carboxílicos, carbonilas, fenólicos, alcoólicos, nitrogenados; (b) componentes aromáticos e alifáticos; (c) carboidratos e proteínas; (d) presença de partículas inorgânicas, como os minerais de argilas, metais e sais; e (e) quantitativas ou semiquantitativas (STEVENSON, 1994; SOLOMON et al., 2005).

Análises de UV-visível adquire dados de inferência qualitativa do grau de humificação, evolução química e dimensionamento das moléculas por meio da análise espectral em um comprimento de onda de 465 e 665 nm, em que se obtém a relação entre a aromaticidade e o grau de condensação dos núcleos aromáticos, altos valores apontam a presença de compostos com maior quantidade de cadeias alifáticas e os valores mais baixos indicam a presença de compostos de cadeias aromáticas e alto grau de humificação (KONONOVA, 1996).

E a Ressonância Magnética Nuclear ( $^{13}\text{C}$ -RMN) afere as principais modificações na contribuição de grupos funcionais lábeis e recalcitrantes, identificação de compostos como ligninas, taninos, carboidratos aminoácidos, biopolímeros alifáticos, dentre outros. Os espectros

apresentam geralmente os mesmos grupos funcionais, porém com diferenças na intensidade dos sinais.

Ainda que sejam conhecida as características gerais químicas e estruturais das SH, as mesmas variam de acordo com a origem das SH, o tempo de transformação da matéria orgânica próprios de cada origem, assim como de fatores de formação do solo, vegetação e clima (JENNY, 1941 em EGLI et al., 2007). As SH podem ser consideradas como um registro natural do processo de humificação que podem refletir a condição da formação e manejo do solo, principalmente a fração do ácido húmico, que é a mais estudada devido a sua maior relação com a intensidade do solo e capacidade de demonstrar as transformações ocorridas nele (FONTANA, 2006).

Tomati e colaboradores (2002) discorreram que além da fonte de MO, o tempo de transformação também influencia nas características das SH, fator relevante na compostagem, em que a falta de maturação do material orgânico pode resultar quantidades desproporcionais de AF, os quais na maioria das vezes, encontram-se em altas proporções por serem os primeiros a serem sintetizados.

### **2.3.2. Influência das SH no desenvolvimento vegetal**

Diversos são os efeitos benéficos que as SH refletem no desenvolvimento das plantas e podem ser diretos e indiretos (NARDI et al., 2002). Os efeitos indiretos estão concatenados com o papel que as SH podem exercer na fertilidade do solo e, assim, favorecer os processos nutricionais das plantas como: provimento de nutrientes, aumento da população microbiana e da capacidade de troca catiônica (CTC), poder tampão de nutrientes no solo, evolução na estrutura do solo, fornecimento de compostos químicos específicos para o vegetal, além de atuarem como transporte de nutrientes (CHEN et al., 2004). Já os efeitos diretos estão atrelados às modificações que as SH promovem em diferentes processos e rotas metabólicas das plantas através de interações que estabelecem com os distintos tecidos vegetais (CHEN et al., 2004).

Segundo García e colaboradores (2018), as interações entre as raízes e os componentes abióticos e bióticos do solo representam o meio essencial pelo qual as plantas extraem recursos, como água e nutrientes do solo ou solução nutritiva. Mediante os efeitos promovidos pelas SH, são capazes de atuarem sobre a morfologia (GARCÍA et al., 2016a), a fisiologia (ZANDONADI et al., 2007) e a biologia molecular das raízes (JANNIN et al., 2012) favorecendo a eficiência de utilização dos recursos pelas culturas e contribui na tolerância a adversidade dos efeitos ambientais.

Um dos efeitos que mais se evidenciam das SH sobre a morfologia radicular é a indução do desenvolvimento radicular com o incremento do número de raízes finas, associadas ao aumento da atividade da enzima  $H^+$ -ATPase da membrana plasmática e o aumento do conteúdo desta enzima em plantas de milho tratadas com SH de vermicomposto e relacionadas com uma atividade similar à hormonal (FAÇANHA et al., 2002). Esses efeitos dependem da concentração das SH (Elgala et al., 1978; Dobbss et al., 2007; Tavares, 2014; Gracia et al., 2016 a,b), de sua fonte (Hernando et al., 1977), de sua fração (AF, AH e subfrações de AH) (Canellas et al. 2013), da idade e espécie vegetal (Blanchet, 1958; Guminski, 1968), assim como das condições de cultivo e do desenho experimental (Trevisan et al., 2010).

O estímulo no sistema radicular aumenta a área superficial e, conseqüentemente, a capacidade de exploração e absorção de nutrientes (CANELLAS et al., 2010). Ao que se refere o aspecto nutricional, essa promoção do crescimento vegetal tem sido justificada pelo incremento da solubilidade de micronutrientes com a formação de complexos solúveis (CHEN et al., 2003; GARCÍA-MINA et al., 2004).

Sob a ótica bioquímica há também modificações pelo efeito da aplicação de SH, assim a aplicação de AH isolados de vermicomposto que, segundo Hernández et al (2013), induziram o aumento na produção de proteínas totais em plantas de alface (*Latuca sativa*), e acréscimo

no conteúdo de clorofila e produção de óleo em plantas de soja (BEFROZ FAR et al., 2013). A aplicação de AF em plantas de pimenta (*Capsicum annuum*) incrementaram o conteúdo de carboidratos, fenóis e carotenóides dos frutos (AMINIFARD et al., 2012).

Na literatura, diversos estudos foram realizados avaliando o crescimento e os parâmetros morfológicos do sistema radicular em respostas aos AH isolados de vermicomposto e solo em plantas de arroz, utilizando o sistema de análise de raiz Winrhizo (TAVARES, 2014; GARCÍA et al., 2016a, b). Foi constatado que o comprimento total, a área total de superfície, volume total e o número de raízes laterais, dentro das classes de diâmetro superfino, fino e médio, obtiveram um padrão dose/resposta quadrática ao ácido húmico em diferentes momentos de avaliação (TAVARES, 2014).

Ainda de acordo com García e colaboradores (2018), a capacidade de introdução das SH nas plantas e suas interações com a superfície das raízes têm inferências tanto fisiológicas como ambientais. A partir do momento que os AH que estão disponíveis na rizosfera interagem com as raízes das plantas de milho, eles podem ser acumulados na superfície das paredes celulares da epiderme e encobrir os poros. Essa interação física causa redução na condutividade hidráulica da raiz, crescimento das folhas e resistência ao estresse hídrico, no entanto, não influencia na velocidade de crescimento das raízes. (ASLI & NEUMANN, 2010). Além disso, podem refletir no crescimento e desenvolvimento da parte aérea das plantas. Os AH aplicados em solução, em concentrações consideradas como adequadas, são capazes de constituir interações com os poros na superfície das paredes celulares em raízes das plantas de pepino (*Cucumis sativus* Ashley), aumentando o crescimento das folhas, possivelmente por um mecanismo mediado por via ABA (ácido abscísico) dependente e com a regulação da condutividade hidráulica e a expressão de aquaporinas de membrana plasmática (*PIPs*) (Olaetxea et al., 2015).

### **2.3.3. Influência das SH em condições de estresse salino**

O uso de um condicionante natural do solo, como as substâncias húmicas, poderia mitigar os efeitos dos prejuízos causados nas culturas pela irrigação com água salina, afetando a fertilidade através da disponibilidade de nutrientes, pela detoxificação de elementos químicos, melhoria das condições físicas e biológicas que podem influenciar no desenvolvimento radicular e na ativação das bombas de prótons o que poderia ser um dos sinais primários da ação das SH na absorção de nutrientes pelas plantas (CANELLAS et al., 2000).

Os AH podem atuar na regulação do crescimento da planta, na disponibilidade de nutriente na rizosfera, na regulação das características de frutificação e floração e tolerância ao estresse (ARANCON et al., 2006; GARCÍA et al., 2014; CANELLAS et al., 2015). Em alguns estudos, relacionaram a presença de AH ao aumento no transporte do íon  $H^+$  e da interação com receptores da enzima  $H^+$ -ATPase (importante enzima na teoria do crescimento ácido) (FAÇANHA et al., 2002). A teoria de Hager demonstra que por meio da hidrólise da ATP através de estímulos de auxina, a enzima  $H^+$ -ATPase extrusa um íon  $H^+$  do citoplasma para o apoplasto, ocorre a redução do apoplasto devido ao excesso de íons  $H^+$  que ativa a enzima sensível ao pH, realizando assim o afrouxamento e expansão da parede celular, que produz o alongamento da célula e com a diferença de potencial hídrico formada na célula, permite a entrada de água e solutos na célula. Este processo propicia o turgor da planta (HAGER et al., 2003; MORSOMME & BOUTRY, 2000; CANELLAS et al., 2015).

Em condições de salinidade, as plantas têm maiores dificuldades para se desenvolverem, devido ao aumento do estresse osmótico pela alta concentração de sal na solução do solo, o que reduz o potencial de água no mesmo, através do aumento na concentração de  $Na^+$  e  $Cl^-$  que se acumula no tecido e pela redução na absorção de nutrientes minerais (MARSCHNER, 1995).

Essa redução do potencial hídrico do solo interfere na capacidade de absorção de nutrientes pelo vegetal, pois há uma maior retenção destes no complexo sortivo do solo e aumenta a disponibilidade de íons com caráter tóxico para a planta (DALIAKOPOULOS et al., 2016). Devido ao estresse gerado pela redução do potencial osmótico do meio, a planta ativa estratégias de sobrevivência, bem como o mecanismo da teoria do crescimento ácido (HAGER, 2003).

Para reduzir os danos causados pelos óxidos reativos formados em sistema de defesa devido à salinização do meio, as plantas utilizam enzimas antioxidantes, como superóxido desmutase, catalase e glutathione peroxidase, para reduzir os acúmulos (CIA et al., 2012). A produção destas enzimas é diretamente influenciada pela presença de AH, favorecendo a degradação de óxidos como o  $H_2O_2$  (AGUIAR et al., 2016).

Desta forma, a aplicação de AH influencia positivamente na obtenção de água e nutrientes para manutenção da planta, devido à função semelhante à da auxina (CANELLAS et al., 2012, 2015; TAVARES et al., 2016), tem função anti-tóxica, atuando na degradação de óxidos (AGUIAR et al., 2015), atua como agente indutor do alongamento da raiz (ZANDONADI et al., 2010; JINDO et al., 2012; CANELLAS et al., 2015; DOBBSS et al., 2016) e redução do potencial osmótico das folhas para regulação do transporte nutricional no interior da planta (AGUIAR et al., 2016), todas estas funções que agem como atenuadoras do estresse hídrico.

#### **2.3.4. Relação das SH com a biota do solo**

As SH têm um papel fundamental no desenvolvimento dos microrganismos do solo. A aplicação das mesmas mostra benefícios na colonização micorrízica de várias espécies vegetais, assim como uma interação positiva na absorção de nutrientes. A interação positiva entre as SH e os FMA poderia ser descrito pelo estímulo do crescimento de hifas intra e extrarradicais de FMA sob efeito de pequenas concentrações de compostos orgânicos (GRYNDLER et al., 2002), capazes de aumentar a atividade das  $H^+$ -ATPases gerando um maior crescimento das hifas e, conseqüentemente, uma maior taxa de colonização radicular e maior absorção de nutrientes e água para as plantas ao incrementar o volume de solo explorado através de sua rede micelial (CAMEL et al., 1999).

As Substâncias húmicas são os principais constituintes orgânicos de solos e sedimentos, estão largamente distribuídas ao longo da superfície da terra e ocorrem em quase todos os ambientes terrestres e aquáticos (SCHNITZER, 1978). Representam a fração da matéria orgânica humificada, onde os microrganismos exercem um papel crucial na decomposição desse material, ciclagem de nutrientes, imobilização de nutrientes em suas próprias células e outras modificações químicas no solo, devido ao fato dos processos que envolvem essa transformação do material orgânico presente no solo serem mediados em alguma das fases por microrganismos. Portanto, os microrganismos, em especial, a biomassa microbiana do solo (BMS) desempenha uma função vital na regulação das alterações da matéria/nutrientes em energia, podendo ser considerada fonte ou dreno destes processos (Cunha et al., 2015).

Para Abbott & Murphy (2007), as enzimas produzidas pelos microrganismos influenciam diretamente o ciclo dos nutrientes. Com isso, pode sintetizar-se que os efeitos da matéria orgânica (MO) sobre as características e atributos biológicos do solo estão relacionados ao fornecimento de carbono, energia e nutrientes para os microrganismos quimioheterotróficos e de energia aos microrganismos quimioautotróficos (Bayer & Mielniczuk, 2008).

Observa-se que a medida da quantidade de carbono e nutrientes imobilizados pelos microrganismos é essencial para avaliar a função da biomassa microbiana na dinâmica do material orgânico a ser humificado e na ciclagem de nutrientes. Entretanto, a qualidade nutricional da matéria orgânica pode ser definida pela relação carbono microbiano/carbono

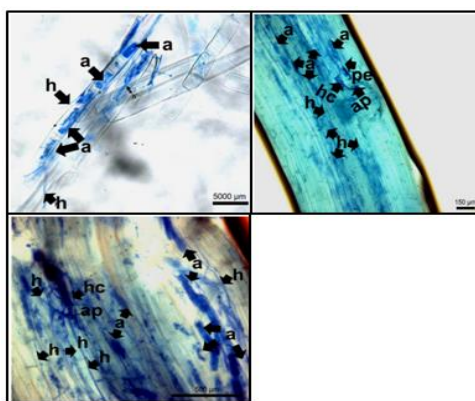
orgânico total, denominada quociente microbiano (qMIC). Em solos com MO de baixa qualidade nutricional ou na presença de fatores que provoquem algum tipo de distúrbio aos microrganismos (pH, deficiências nutricionais, presença de metais pesados), a biomassa microbiana torna-se incapaz de utilizar totalmente o carbono orgânico e, nesse caso, as relações  $C_{\text{microbiano}}/C_{\text{orgânico}}$  diminuem (Gama-Rodrigues & Gama-Rodrigues, 2008).

Já está bem documentado na literatura que as alterações na quantidade e na qualidade do material orgânico adicionados ao solo favorecem o crescimento e deslocamento de comunidades microbianas, bem como a diversidade microbiana do solo (Chakraborty et al., 2011). Desse modo, as características e atributos biológicos do solo são os mais sensíveis indicadores para a avaliação da sua qualidade.

#### 2.4. Fungos Micorrízicos Arbusculares

Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são fungos de solo, biotróficos obrigatórios e formadores da simbiose mutualista mais comum na natureza: a micorriza arbuscular (MA) (SOUZA et al., 2010). Essa associação ocorre nas raízes de diversas plantas terrestres, promovendo melhorias no crescimento, desenvolvimento e aumento na tolerância e/ou resistência do vegetal a vários agentes ambientais adversos (Folli-Pereira et al., 2012). Ademais, os FMAs podem ser utilizados como potenciais agentes de controle biológico de doenças de plantas. Tais microrganismos são capazes de produzir a glomalina, uma proteína que desempenha papel fundamental na estabilidade do solo e bioestabilização de solos contaminados.

As distintas respostas das plantas à simbiose podem ser atribuídas à diversidade funcional das MAs, em função da interação FMA-planta-condições ambientais (INVAM, 2012). A colonização micorrízica das raízes tem impacto significativo na expressão de genes de diversas plantas que codificam proteínas provavelmente envolvidas na tolerância ao estresse (Folli-Pereira et al., 2012). Nesse processo simbiótico, o fungo e a planta apresentam interação genética, morfológica e funcional, em que o fungo ao colonizar o tecido cortical radicular desenvolve estruturas intracelulares denominadas de arbúsculos para, em seguida, formar o micélio extra radicular, cujo mesmo é responsável por adquirir água e nutrientes do solo, à medida que as plantas proveem aos fungos os compostos contendo carbono (HARRISON, 1999; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). As estruturas típicas dos fungos micorrízicos arbusculares pode ser observada na Figura 2.



**Figura 2.** Estruturas típicas formadas durante a colonização micorrízica dos fungos. Hifas (h); apressório (ap); arbúsculo (a). Fonte: Pinos et al., 2019.



A capacidade de formar MA é restrita a fungos pertencentes a cinco famílias (Gigasporaceae, Glomeraceae, Acaulosporaceae, Paraglomaceae e Archaeosporaceae) da ordem Glomerales do filo Glomeromycota (Stürmer & Siqueira, 2006), das quais são conhecidas cerca de 140 espécies, distribuídas em apenas sete gêneros (Acaulospora, Archaeospora, Entrophospora, Glomus, Gigaspora, Paraglomus e Scutellospora) (INVAM, 2012).

Plantas em simbiose micorrízica sofrem modificações bioquímicas, fisiológicas e moleculares relacionadas com o seu sistema de defesa para que a simbiose seja estabelecida (Garcia-Garrido & Ocampo, 2002). Essas respostas, entretanto, são limitadas, transientes e restritas a células específicas, porém as reações nas plantas têm semelhanças, do ponto de vista fisiológico, com as reações que se observam durante a infecção por patógenos (Lambais et al., 2003).

Neste tipo de associação ocorre estreita interação entre os parceiros, apresentando uma perfeita integração morfológica e fisiológica, o que resulta em uma alta compatibilidade funcional. A planta beneficia-se do aumento da absorção de água e nutrientes, principalmente de fósforo (P), proporcionado pelas hifas fúngicas, que funcionam como extensão do sistema radicular, enquanto o fungo é beneficiado pelos fotoassimilados exsudados pelas plantas, que permitem o completo ciclo de vida dos FMAs, que só ocorre em associação com a planta hospedeira (Smith & Read, 2008). Embora essa simbiose seja muitas vezes considerada mutualista, pois há troca benéfica entre os FMAs e a planta, o efeito líquido sobre a aptidão da planta pode variar de mutualista a parasitário, dependendo das condições ecológicas e combinações fungo-planta (Kiers & van der Heijden, 2006).

Os FMAs transformam as características físico-químicas do substrato e contribuem para a formação e manutenção da estrutura do solo, agregando as partículas do solo por meio de hifas extrarradiculares e de seus exsudatos e resíduos (Rillig, 2004). A diversidade funcional das micorrizas arbusculares (MAs) tem sido, frequentemente, definida em termos de respostas no crescimento das plantas, que podem variar de influência negativas a positivas, dependendo da combinação particular fungo-planta e das condições ambientais (Johnson et al., 1997). Essa resposta pode ser medida pela percentagem de colonização micorrízica, absorção de nutrientes e efeitos sobre o crescimento das plantas. As plantas respondem de modo singular a diferentes FMAs, sendo essas respostas observadas tanto entre isolados de FMAs pertencentes a outras espécies, como entre isolados de uma mesma espécie (Munkvold et al., 2004; Smith et al., 2004).

Contudo, ainda não está bem definido na literatura se as plantas são capazes de selecionar FMAs eficientes quanto à estimulação do seu crescimento, uma vez que é importante ter dimensão do incremento da diversidade de FMAs no solo e o quanto influencia as plantas e quais combinações planta-fungo ocorrem preferencialmente e são mais eficientes (Heijden et al., 2004). Para Klironomos e colaboradores (2000), conseqüentemente, a presença ou a ausência de espécies particulares de FMAs e mudanças na estrutura da população, bem como a sua diversidade global, podem interferir na diversidade, na estrutura e na produtividade da comunidade de plantas (Heijden et al., 2004), tanto em estudos experimentais de casa de vegetação como em ecossistemas naturais.

O aumento da diversidade de FMAs na comunidade presente no solo pode aumentar as possibilidades de estabelecimento de uma espécie de fungo mais eficiente para o crescimento das plantas (Lekberg et al., 2007). Visto que é importante conhecer a estrutura da comunidade de FMAs de determinado ambiente ou bioma e avaliar a diversidade funcional desses simbioses, visando estabelecer se há relação entre a diversidade de FMAs e os benefícios às plantas (Finlay, 2004).

#### **2.4.1. Fungos Micorrízicos Arbusculares e sua interação com o arroz**

Do ponto de vista socioeconômico, a utilização da micorriza como tecnologia de baixo custo, é uma alternativa à limitação dos solos do cerrado (Sieverding e Saif, 1984). Os FMAs são pouco compatíveis e desnecessários em sistemas de produção manejados intensamente, mas podem “representar as raízes de uma agricultura sustentável” em sistemas com insumos reduzidos ou sistemas orgânicos (Nosse et al., 2008). As pressões para redução no uso de agroquímico (fertilizantes e biocidas), a adoção de sistemas de rotação de culturas e de cultivo reduzido do solo, a necessidade de melhor integração agricultura-ambiente e o desenvolvimento de tecnologias para a exploração dos FMAs salientam a importância destes para a produção agrícola (Moreira e Siqueira, 2006).

Já foi comprovado em alguns estudos, que a inoculação de FMA aumentou as relações panícula: parte aérea, tanto em relação ao conteúdo de nitrogênio (N) quanto ao conteúdo de fósforo (P). É importante ressaltar que o arroz inoculado exibiu maior rendimento de grãos, com uma melhoria, aproximadamente de 62%, quando cultivado sob baixas doses de fertilizantes (Zhang et al., 2014). Estes autores demonstraram também que (i) as plantas inoculadas com FMA estão em conformidade com a teoria do equilíbrio funcional (TEF), embora em menor extensão em comparação com as plantas não inoculadas e, (ii) a inoculação com FMA resultou em uma maior alocação da biomassa da parte aérea para panículas e um incremento na produção de grãos, estimulando a redistribuição de N e P para panículas.

A maneira como as plantas respondem às variações na disponibilidade de nutrientes influencia fortemente sua capacidade de crescer e competir em habitats naturais e modificados (Benner e Bazzaz 1985; López Bucio et al. 2003), sendo cruciais as alterações na alocação de recursos sob baixa e alta oferta de nutrientes (Reynolds e D'Antonio 1996). Por trás dessas variações estão as alternâncias no investimento relativo da biomassa de toda a planta em parte aérea e raízes e/ou na alocação relativa de estruturas reprodutivas e vegetativas das plantas (Schmid e Weiner 1993; Vannoordwijk e Dewilligen 1987; Veresoglou et al. 2012). A teoria do equilíbrio funcional (TEF), também chamada de "hipótese de crescimento equilibrado" (Shingley e Meziane 2002) ou "teoria de particionamento ideal" (Kleczewski et al. 2010; McConnaughay e Coleman 1999), propõe que quando os recursos do solo, por exemplo, nitrogênio (N) ou fósforo (P) tornam-se limitados, as plantas alocam mais biomassa nas raízes do que na parte aérea; por outro lado, as plantas devem investir menos em raízes quando a limitação de nutrientes é removida, permitindo maior investimento dos recursos na parte aérea (Vannoordwijk e Dewilligen 1987). A TEF tem sido apoiada por vários estudos em que a taxa de massa radicular (ou seja, a razão de biomassa radicular / biomassa de planta inteira) diminuiu com o aumento da disponibilidade de nutrientes (Kleczewski et al. 2010; Reynolds e D'Antonio 1996; Sims et al. 2012).

Pouco foi relatado na literatura sobre como o FMA afeta a alocação de biomassa para parte aérea e raízes em plantas hospedeiras expostas a alguns tipos de estresse, incluindo a deficiência de nutrientes. Além disso, também não está claro se as plantas inoculadas com FMA estão em conformidade com a TEF quando expostas a condições nutricionais alteradas.

A relação entre parte aérea e raiz apresentada pela TEF não explica as relações funcionais reais que caracterizam a alocação de biomassa para os órgãos vegetativos e reprodutivos. As folhas fornecem à planta inteira fotossintatos, enquanto os caules funcionam como órgãos de transporte e fornecem apoio físico a folhas e flores (Cui et al. 2003). O investimento em órgãos reprodutivos, como panículas, representa um grande sumidouro de carbono e nutrientes, além de determinar o rendimento econômico das culturas de cereais. Diante disso, é necessário subdividir toda a parte aérea em folhas, caules e panículas ao avaliar como os tratamentos afetam a alocação de biomassa e o desempenho das plantas (Poorter e Nagel 2000; Poorter et al. 2012). A quantidade relativa de biomassa presente nos vários órgãos não é fixa, mas varia entre os ambientes (Zhang et al., 2014). Portanto ainda segundo este autor, plantas sob diferentes condições ambientais podem equilibrar a translocação de recursos a esses órgãos

acima do solo, de maneira que atenda sua demanda e funções fisiológicas. Estudos anteriores relataram que o deslocamento dos recursos para folhas aumenta em mesma proporção às raízes com o aumento da fertilização (Poorter e Nagel 2000; Shipley e Meziane 2002). Além disso, foi relatado que as características de raiz e caule estão estreitamente alinhadas (Fortunel et al. 2012), sugerindo que o caule deva ser o órgão com menos recursos com o aumento da disponibilidade de nutrientes (Zhang et al., 2014). A maioria das pesquisas nessa área, no entanto, concentrou-se em impactos ambientais na alocação de raízes, caules e folhas durante o crescimento vegetativo (Poorter et al. 2012), mas não durante o estágio reprodutivo.

Como resultado da forte influência que o aporte de nutrientes do hospedeiro exerce sobre o FMA, o uso de fertilizantes tem um grande impacto na relação entre a planta hospedeira e o FMA (Gosling et al. 2006). Por exemplo, menor colonização de raízes por FMA (em várias espécies de culturas) e menor densidade de esporos de FMA foram observadas à medida que a fertilização com P no solo aumentou (Kahiluoto et al. 2000).

No entanto, ainda não foi estabelecido se o impacto do FMA na atribuição de biomassa na parte aérea e na produção de grãos é afetado pela disponibilidade de nutrientes. Os efeitos potencialmente benéficos da inoculação de FMA para otimizar os sistemas de produção de arroz têm recebido muita atenção na literatura científica. Uma gama de respostas positivas foi observada mesmo em condições anaeróbicas (Purakayastha e Chhonkar 2001; Wangiyana et al. 2006), incluindo aumento do tamanho da planta, concentrações de nutrientes nos tecidos (Solaiman e Hirata 1996, 1997a) e taxas fotossintéticas (Black et al. 2000). As conclusões sobre a influência da inoculação de FMA no rendimento de grãos de arroz são conflitantes, no entanto, com outros estudos notificando aumento de rendimento, declínio ou permanência constante em comparação com plantas não inoculadas (Li et al. 2011; Secilia e Bagyaraj 1994; Wangiyana et al., 2006). Portanto, são necessárias mais informações sobre os efeitos de FMA no rendimento de grãos de arroz para melhorar a produção de arroz via inoculação destes microrganismos.

#### **2.4.2. Fungos Micorrízicos Arbusculares em ambientes salinos**

A pluralidade funcional das micorrizas arbusculares (MAs) é, frequentemente, definida em termos de resposta no crescimento das plantas, que podem variar de efeitos negativos a positivos, conforme a combinação particular fungo-planta e das condições ambientais (Johnson et al., 1997). Essa pluralidade pode ser mensurada através da percentagem de colonização micorrízica, absorção de nutrientes e a repercussão sobre o crescimento das plantas. O vegetal responde de maneira peculiar aos diferentes FMAs, sendo essas respostas observadas tanto entre isolados de FMAs das mais distintas espécies, como entre isolados de uma mesma espécie (Munkvold et al., 2004; Smith et al., 2004). Em algumas situações, a espécie que propicia o melhor crescimento de determinada planta hospedeira pode retardar o crescimento de outra, e essa relação benéfica ou parasitária vai depender da combinação fungo-planta e das condições ambientais (Smith & Read, 2008). Do mesmo modo, espécies individuais de FMAs podem diversificar muito na sua resposta ao crescimento de diferentes espécies de plantas, e essas variações podem suceder tanto entre isolados de FMAs de diferentes espécies, como entre isolados da mesma espécie (Munkvold et al., 2004; Smith et al., 2004).

A colonização das raízes por esses microrganismos correlaciona uma série de eventos morfofisiológicos e bioquímicos que são regulados pela interação de plantas e fungos, assim como por fatores ambientais (Costa & Lovato, 2011). Ainda não está bem estabelecido na literatura, a respeito dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos que melhoram a tolerância de plantas micorrizadas ao estresse abiótico, embora a maior absorção de nutrientes possa ser uma das justificativas da melhoria do estado nutricional da planta (Kafkas & Ortas, 2009).

Alterações fisiológicas nas plantas após a colonização micorrízica ativam mecanismos de defesa e explicam, pelo menos parcialmente, a diminuição da suscetibilidade das plantas a

patógenos (Folli-Pereira et al., 2012). Esses efeitos podem surgir através de mudanças na formação de lignina (Saldajeno et al., 2008), produção de compostos fenólicos (Zeng, 2006) e aparecimento de novas isoformas das enzimas hidrolíticas, como quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase (El-Khallal, 2007).

Quando colonizadas por FMAs, as plantas sofrem alterações bioquímicas, fisiológicas e moleculares relacionadas com o seu sistema de defesa, para que a simbiose seja estabelecida (Garcia-Garrido & Ocampo, 2002; De Gara et al., 2003; Selosse et al., 2004). Plantas com maior atividade de enzimas antioxidativas apresentam-se mais tolerantes a diferentes estresses, e as micorrizas induzem aumento da atividade das enzimas antioxidativas, como peroxidase, catalase e superóxido dismutase (Lambais et al., 2003; Arfaoui et al., 2007).

As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) formam-se naturalmente no interior das células, nos cloroplastos e mitocôndrias, como produtos secundários derivados da fotossíntese e da respiração. Contudo, podem ser produzidas em excesso, devido à condição de estresse, originando o fenômeno conhecido como “explosão oxidativa” (Matamoros et al., 2006; del Rio et al., 2006).

Plantas que aumentam a produção de enzimas antioxidativas mostram-se mais tolerantes a diferentes estresses, e as micorrizas podem estimular a atividade dessas enzimas (Alguacil et al., 2003; Lambais et al., 2003; Abdel Latif & Chaoxing, 2011). Em associações micorrízicas, as EROs atuam como mensageiro secundário, e alterações na expressão das enzimas antioxidativas, como peroxidases, estão relacionadas com o desenvolvimento da simbiose (Borde et al., 2011). Dessa forma, os FMAs podem aumentar a habilidade das plantas em resistir a estresses bióticos e abióticos, por permitirem maior tolerância para as EROs (Folli-Pereira et al., 2012). Segundo Zhong Qun e colaboradores (2007), os FMAs em solos salinos podem atenuar as perdas de produção das plantas através do aumento da tolerância ao sal.

A tolerância de plantas à salinidade é uma peculiaridade complexa, em que muitos fatores podem contribuir: geração de osmoprotetores (glicina betaína, prolina, poliois) no citoplasma; fornecimento de energia por ATPases para a exportação de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , proteínas específicas de transporte para a transferência desses íons para o vacúolo ou para os espaços apoplásticos; e fornecimento adicional de água mediado por aquaporinas para manter o balanceamento osmótico (Hasegawa et al., 2000).

Plantas podem responder ao estresse hídrico em níveis morfológicos, anatômicos e celulares com modificações que permitem que se evite o estresse ou aumente a sua tolerância (Bray, 1997). Uma resposta primordial ao déficit hídrico é o ajustamento osmótico. Para Kishor e colaboradores (1995), ao tentar enfrentar a falta de água, muitas plantas reduzem o potencial osmótico de suas células pela síntese e acumulação de osmólitos compatíveis, como prolina, que participa da regulação osmótica. Contudo, a prolina também desempenha uma função importante como osmólito compatível protetor, eliminando as espécies reativas de oxigênio e facilitando a correção do potencial redox alterado pela reposição do fornecimento de  $\text{NADP}^+$  (Hasegawa et al., 2000).

Plantas associadas aos FMAs têm, frequentemente, maior resistência ao estresse salino, talvez com maior consistência do que ao estresse hídrico. Muitos pesquisadores têm relatado que os FMAs aumentam a tolerância das plantas ao estresse salino (He et al., 2007; Jahromi et al., 2008; Hajiboland et al., 2010) por melhorarem a absorção de água e nutrientes pelas plantas (Asghari et al., 2005), o equilíbrio iônico (Giri et al., 2007) e por preservarem a atividade de enzimas (Rabie & Almadini, 2005).

A associação micorrízica pode aumentar o teor de clorofila das folhas, normalmente, plantas micorrizadas, crescendo sob condições de estresse, apresentam folhas mais verdes, sugerindo que o estresse interfere na síntese de clorofila (Colla et al., 2008). A inoculação micorrízica também aumenta a absorção de P e Mg e reduz as concentrações de  $\text{Na}^+$  na planta, o que por

sua vez, contribui para aumentar o teor de clorofila e, conseqüentemente, melhorar o desempenho geral das plantas micorrizadas sob condições de estresse (Sheng et al., 2008).

A salinidade modifica a formação e funcionamento da simbiose micorrízica (He et al., 2007), o que é manifestado pela redução da colonização das raízes das plantas por alguns FMAs na presença de NaCl (Giri et al., 2007), provavelmente devido ao efeito direto de NaCl sobre os fungos (Juniper & Abbott, 2006).

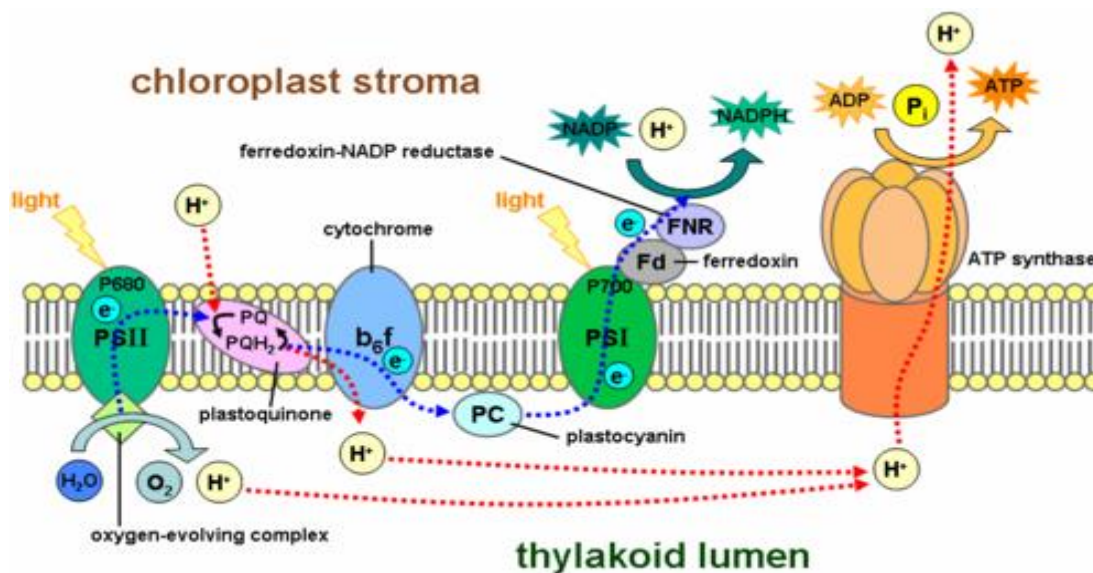
Para as plantas sobreviverem sob condições de estresse hídrico e salino, o ajuste do potencial osmótico foliar é de alta relevância e requer um equilíbrio osmótico intracelular, sendo assim, as plantas acumulam alguns solutos orgânicos (prolina, açúcares solúveis, glicina betaína, entre outros) e íons inorgânicos para manter maior ajustamento osmótico (Yang et al., 2009). Parece que a presença de FMAs nas raízes pode modificar o potencial osmótico das folhas, assim como eles têm mostrado influenciar a composição de carboidratos e o nível de prolina, que é um osmólito compatível mais comum em plantas, responsável por desempenhar um aumento da adaptação destas à salinidade (Hasegawa et al., 2000). Além de ajuste osmótico, essa molécula possui outras funções propostas em tecidos de plantas osmoticamente estressadas: mantenedor e protetor da integridade da membrana plasmática; fonte de C e N; e eliminador de radicais hidroxílicos (Hinch & Hagemann, 2004).

## 2.5. Fotossíntese

Os avanços na biologia estrutural e na genômica comparativa nos permitem identificar componentes individuais do aparelho fotossintético precisamente em relação à localização subcelular de seus genes. Em sua origem evolutiva, plantas e algas eucarióticas adquiriram um aparelho fotossintético completo a partir da incorporação de cianobactérias, que são procariontes, como simbiontes intracelulares (Archibald, 2006; Raven e Allen, 2003). Genes cianobacterianos foram posteriormente copiados para o núcleo celular do hospedeiro (Bock e Timmis, 2008; Timmis, 2004). Muitos desses genes sobreviveram e ainda são expressos (Martin, 2002; Rujan e Martin, 2001). Genes nucleares de origem cianobacteriana codificam proteínas precursoras que são sintetizadas no citosol, nos ribossomos 80S. Algumas dessas proteínas precursoras são então importadas, pós-traducionalmente, de volta aos cloroplastos nos quais as cianobactérias endossimbióticas evoluíram (Aldridge, 2009; Soll e Schleiff, 2004). No entanto, o aparelho fotossintético (Figura 3) dos cloroplastos nunca é completamente codificado no núcleo da célula vegetal, porque algumas proteínas-chave da fotossíntese são sempre sintetizadas inteiramente dentro dos próprios cloroplastos, nos ribossomos do tipo bacteriano 70S (Sharma et al., 2007), usando mRNA produzido pela transcrição de seus modelos genéticos no DNA do cloroplasto (Barkan, 2011; Maier, 2008). O DNA do cloroplasto é um citoplasmático discreto genoma (Green, 2011; Schmitz-Linneweber et al., 2001).

Tanto para a fotossíntese quanto para o sistema genético dos cloroplastos que a suporta, alguns componentes são sintetizados *in situ*, enquanto outros são importados (Archibald, 2006; Gould et al., 2008; Barkan, 2011; Woodson e Chory, 2008).

Os principais complexos fotossintéticos de proteínas realizam captura de luz, fotoquímica primária, transferência secundária de elétrons, síntese de ATP e assimilação de CO<sub>2</sub>. Esses complexos são todas quimeras genéticas, porque contêm subunidades codificadas e fabricadas no próprio cloroplasto que, no entanto, são montadas em proximidade e contato funcional íntimo com subunidades codificadas em cromossomos do núcleo e importado, em vez disso, do citosol (Allen et al., 2011).



**Figura 3.** Reações fotossintéticas dependentes de luz na membrana tilacóide.

Fonte: Taiz & Zeiger, *Plant Physiology*, 4ª ed.

O aparato fotossintético, e particularmente o fotossistema (PS) II, é muito sensível e precisa sofrer alterações de estado o tempo todo para manter a função ideal em um ambiente em constante mudança. Técnicas de fluorescência são úteis para monitorar mudanças in vivo no estado das plantas detectando e avaliando essas alterações através de seu impacto nas propriedades fotossintéticas funcionais, e analisa a cinética de fluorescência direta da clorofila (Chl) emitida pelas plantas e registrada em alta resolução de microssegundos a segundos; para isto são utilizados instrumentos comerciais como PEA, FIM, HandyPEA ou PocketPEA (Hansatech Instruments, Kings Lynn Norfolk, Reino Unido) (Strasser et al. 2004).

Há um rápido aumento da fluorescência polifásica, de 10  $\mu$ s para 1 s, exibido por folhas em diferentes estados fisiológicos (Strasser e Govindjee 1992; Strasser et al. 1995). Este aumento mostra as etapas claramente visíveis O, J, I e P (designadas como OJIP). Usando o derivado de um transiente, ou as diferenças e / ou proporções de transientes adequadamente normalizados exibidos por plantas estressadas e não estressadas, permite a detecção de mais bandas / fases, O-L-K-J-I-H-G-P (Strasser et al. 2004); as bandas entre F0 e Fp são rotuladas em ordem alfabética, de eventos mais lentos a mais rápidos. Essas fases fornecem uma riqueza de informações sobre a presença e função de mecanismos que governam importantes propriedades fotossintéticas funcionais. Além disso, a análise dos transientes brutos da fluorescência OJIP pelas equações do chamado teste JIP, que foram formuladas com base na teoria do fluxo de energia em biomembranas (Strasser 1978, 1981), leva a uma quantificação dessas propriedades, daí a avaliação do impacto das mudanças de estado induzidas pelo estresse. O teste JIP, que é um procedimento bem elaborado, foi desenvolvido no laboratório de Bioenergética de Genebra e hoje é usado mundialmente, pois pode ser facilmente usado para a descrição de plantas sob estresse e, portanto, pode servir como uma ferramenta para rastrear a vitalidade das plantas em qualquer biótopo.

### **3. CAPÍTULO I**

## **ALTERAÇÕES NOS PARÂMETROS MORFO-FISIOLÓGICOS EM ARROZ (*Oryza sativa* L.) SOB ESTRESSE SALINO**

### 3.1 RESUMO

Nos sistemas agrícolas a produção é severamente influenciada por condições ambientais adversas, dentre as quais se destaca a salinidade, tanto dos solos como da água de irrigação, constituindo um fator limitante para o cultivo do arroz, principalmente nos estágios iniciais do desenvolvimento e no período de floração. A utilização de fontes de água de má qualidade para irrigação gera como efeito o acúmulo de sais no solo, provocando toxicidade na cultura. Com isso, objetivou-se neste capítulo avaliar a influência de diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), afim de selecionar a máxima dose que a espécie em estudo tolerasse sem sofrer danos letais no seu crescimento, desenvolvimento e metabolismo. O experimento foi realizado em casa de vegetação. As plantas foram cultivadas em vasos de 0,7 L contendo areia previamente lavada e autoclavada, recebendo a cada três dias uma nova solução nutritiva adicionando os tratamentos compostos pelas concentrações salinas utilizadas: 0, 50, 150, 200 e 300 mM. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizados com dez repetições de cada tratamento. Após 30 dias, foram avaliadas alterações no rendimento fotossintético, a produção de biomassa, parâmetros morfológicos e a dinâmica da arquitetura do sistema radicular, além do acúmulo de nutrientes na parte aérea. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para as variáveis de fluorescência transiente da clorofila *a*. Os dados relativos à biomassa foram avaliados por meio de regressão linear. Os rendimentos da biomassa e fotossintético foram os indicativos para seleção da dose, uma vez que as plantas ao receberem o tratamento com a máxima concentração de NaCl (300 mM) obtiveram perdas consideráveis em sua produção, o que inclui o fato de terem sido severamente prejudicadas quanto ao seu sistema radicular. Nas condições experimentais testadas, o tratamento que apresentou ser o máximo que a cultura tolerasse a salinidade foi a dose de 200 mM.

**Palavras-chave:** Arquitetura radicular. Fluorescência transiente de Chl *a*. Salinidade.



### 3.2 ABSTRACT

In agricultural systems, production is severely influenced by adverse environmental conditions, among which the salinity of both soil and irrigation water stands out, constituting a limiting factor for rice cultivation, especially in the early stages of development and in the period of flowering. The use of poor quality water sources for irrigation has the effect of accumulating salts in the soil, causing toxicity in the crop. Thus, the objective of this chapter was to evaluate the influence of different concentrations of sodium chloride (NaCl), in order to select the maximum dose that the species under study would tolerate without suffering lethal damage in its growth, development and metabolism. The experiment was carried out in a greenhouse. The plants were grown in 0.7 L pots containing previously washed and autoclaved sand, receiving a new nutrient solution every three days, adding the treatments composed of the salt concentrations used: 0, 50, 150, 200 and 300 mM. The experimental design adopted was completely randomized with ten replicates of each treatment. After 30 days, changes in photosynthetic yield, biomass production, morphological parameters and the dynamics of the root system architecture were evaluated, in addition to the accumulation of nutrients in the aerial part. All data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and the means were compared by Tukey's test at 5% probability for the chlorophyll *a* transient fluorescence variables. The biomass data were evaluated using linear regression. The biomass and photosynthetic yields were indicative for dose selection, since the plants, when receiving the treatment with the maximum concentration of NaCl (300 mM), obtained considerable losses in their production, which includes the fact that they were severely impaired as to its root system. In the experimental conditions tested, the treatment that proved to be the maximum that the culture tolerated salinity was the dose of 200 mM.

**Keywords:** Root architecture. Chl transient fluorescence *a*. Salinity.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo (FAS/USDA, 2019). Este contexto encontra-se agravado pelo aumento na erosão e degradação dos solos, atrelado à crescente demanda alimentar, devido ao aumento populacional (Menezes-Benavente et al., 2004).

Nos sistemas agrícolas, a produção é severamente influenciada por condições ambientais adversas, que provocam severas perdas na produtividade. Dentre os fatores ambientais, a salinidade é um dos maiores limitantes para a produção de arroz. É um estresse abiótico que causa uma série de modificações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares que reagem com seu potencial genético, limitando seu crescimento, reprodução e produtividade (Mahajan e Tujeta, 2006).

O estresse salino, oriundo do acúmulo de cloreto de sódio é um problema para a agricultura em todo o mundo, sendo mais agressivo nas regiões áridas e semiáridas, onde as elevadas taxas evapotranspiratórias e as baixas precipitações pluviométricas, correlacionadas ao manejo inadequado do solo e da água, têm contribuído para o surgimento de solos salinizados (Zhu, 2011). Segundo dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2008), cerca de 20% das terras cultivadas no mundo vêm enfrentando problemas de salinização, em contrapartida no Brasil, a área afetada corresponde a 2% da área total.

Altas concentrações de sal propiciam a redução no crescimento e desenvolvimento das plantas, decorrente de seus efeitos osmóticos, tóxicos e nutricionais (Munns, 2008). A salinidade altera a disponibilidade hídrica, uma vez que os sais solúveis presentes em excesso no solo aumentam a retenção de solutos na água do solo, diminuindo assim, a água disponível para a planta. O desequilíbrio iônico, provocado devido ao acúmulo de íons tóxicos como  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  e a depleção de íons como  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^+$ , também é um efeito direto da salinidade (Sumithra et al., 2006). Dentre as consequências do estresse por sal, são: distúrbios na integridade das membranas, alterações nos níveis de reguladores de crescimento, bem como modificações nas atividades metabólicas, incluindo a fotossíntese e o incremento da produção de espécies reativas de oxigênio (Zhu, 2001; Panda e Khan, 2009).

Em plantas superiores, os principais pigmentos fotossintéticos são as clorofilas e os carotenoides. Conforme a espécie em estudo, cultivar, tempo de exposição e concentração de sal existente, a salinidade pode afetar a atividade fotossintética, através da diminuição da síntese ou degradação de clorofila (Santos, 2004). Além disso, o acúmulo de cloreto de sódio (NaCl) nos tecidos acarreta uma redução nos processos de síntese de ATP acoplada à fase fotoquímica da fotossíntese, além de promover alterações no processo respiratório, assimilação do nitrogênio e metabolismo de proteínas (Munns, 2002).

Nos últimos anos, tem-se dado especial atenção aos danos que impactam a arquitetura das raízes sob as condições de estresse salino (Julkowska et al., 2014). A dinâmica do sistema radicular pode ser correlacionada com o mecanismo funcional adaptativo nas partes aéreas das plantas, essenciais para uma existência contínua (Rogers et al., 2016). As alterações bruscas que ocorrem na arquitetura radicular podem conferir a capacidade de regular a captação de água e íons para permitir um controle eficiente do *status* da água na planta diante do estresse, entretanto, há uma demanda energética para tal desempenho (Ijaz et al., 2018). Os parâmetros da morfologia radicular são critérios de extrema relevância para o crescimento de qualquer cultura e respostas às condições adversas ao seu desenvolvimento (Mohammad et al., 1998). Dessa forma, o presente capítulo teve como objetivo avaliar a influência de diferentes níveis de NaCl nos parâmetros morfológicos da raiz, fisiológicos sobre a fotossíntese e aspectos nutricionais das plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) da variedade BRS Esmeralda.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1 Material vegetal e condições experimentais

Sementes de arroz (*Oryza sativa* L. cv. BRS Esmeralda) foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 2%, seguido de três lavagens consecutivas em água destiladas. Foram semeadas em vasos de três litros, sob uma camada de gaze embebida de água destilada. O experimento foi conduzido em casa de vegetação.

Aos sete dias após a semeadura (DAS), as plântulas foram padronizadas quanto à uniformidade de sua altura e número de folhas, em seguida, transplantadas em vasos de 700 mL, contendo areia lavada e autoclavada e receberam solução nutritiva modificada (Hoagland e Arnon, 1950). Após mais sete dias de aclimação, foram submetidas às seguintes concentrações de cloreto de sódio: 0 mM, 50 mM, 150 mM, 200mM e 300 mM de NaCl, em que foram dissolvidas na própria solução nutritiva e reaplicadas de três em três dias e mantidas sob o fotoperíodo de 10 horas, à temperatura ambiente de  $30\pm 5^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de, aproximadamente, 60%.

Quinze dias após a imposição do estresse, foi medida a fluorescência transiente de Chl *a* nas primeiras horas de luz do dia. Ao final desta avaliação, todas as plantas foram coletadas e foi avaliado o efeito da salinidade sob o crescimento das plantas através dos indicadores de crescimento (massa fresca e massa seca) e percentual de umidade, determinado o acúmulo do sódio ( $\text{Na}^+$ ) e nutrientes, como : potássio ( $\text{K}^+$ ) e fósforo (P) e os parâmetros morfológicos do sistema radicular (comprimento total – mm; área total –  $\text{mm}^2$ ; número total de pontas; número de bifurcações; volume total –  $\text{mm}^3$  e diâmetro médio. Cada característica dimensionada dentro de três classes de raiz: superfina, fina e grossa).

#### 3.4.2 Efeito da salinidade no crescimento das plantas e os indicadores de estresse hídrico

##### a) Produção de biomassa

O crescimento tanto da parte aérea como do sistema radicular foi determinado após a separação em parte aérea e radicular, pesadas logo após a coleta, obtendo assim a massa fresca e, então, colocadas para secar em estufa a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 72 horas até peso constante, para determinação de massa seca em balança analítica.

##### b) Percentual de umidade

O percentual de umidade da parte aérea e da raiz foi determinado segundo Slavick (1974), utilizando a seguinte relação:

$$\%U = [ (MF - MS) / MF ] \times 100$$

Para analisar o percentual de umidade da parte aérea foram utilizados valores de:

MF = massa fresca da parte aérea

MS = massa seca da parte aérea

%U = percentual de umidade da parte aérea

Ao analisar o percentual de umidade da raiz foram utilizados valores de:

MF = massa fresca da raiz

MS = massa seca da raiz

%U = percentual de umidade da raiz

### c) Determinação de macro e micronutrientes em tecidos foliares

Realizaram-se análises referentes ao estado nutricional das plantas. Para tal finalidade, as amostras da parte aérea, que haviam sido colocadas na estufa a 70°C para a obtenção da massa seca, foram picotadas em frações muito pequenas e realizada uma digestão nitro-perclórica para a determinação de Na, P, K, Ca, Mg, Fe. As determinações analíticas foram realizadas através dos equipamentos de espectroscopia de absorção atômica (Ca, Mg e Fe), fotometria de chama (Na e K) e espectrofotometria colorimétrica (P) (Malavolta *et al.*, 1989).

### d) Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a* (O-J-I-P)

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi medida utilizando-se um fluorômetro portátil (HandyPEA, Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK). Os cliques utilizados para esta medição foram colocados no terço médio de folhas jovens completamente expandidas, no período da manhã, e as medições foram realizadas 20 minutos após a adaptação das folhas ao escuro. A emissão de fluorescência é induzida em uma área de 4 mm de diâmetro da folha pela exposição da amostra a um pulso de luz saturante numa intensidade de 3000  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  sendo o intervalo entre os pulsos de 500 ms. A partir da curva de emissão de fluorescência transiente obtida, as intensidades determinadas a 50  $\mu\text{s}$  (fluorescência inicial –  $F_0$ ), 100, 300  $\mu\text{s}$ , 2 ms ( $F_j$ ) e  $F_M$  (fluorescência máxima), foram utilizadas para o cálculo dos parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER & STRASSER, 1995).

**Tabela 2.** Principais parâmetros do Teste JIP (Extraída de Sousa, 2012; adaptada de Strasser et al., 2004 e Yusuf et al., 2010)

Parâmetros de fluorescência calculados a partir dos dados primários obtidos	
$F_V = F_M - F_0$	Fluorescência variável.
$F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo do FSII.
$V_t$	Fluorescência variável relativa em um tempo "t".
$V_j$	Fluorescência variável relativa em relação ao nível J.
$V_i$	Fluorescência variável relativa em relação ao nível I.
$M_0 = 4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$	Declive inicial aproximado (em $\text{ms}^{-1}$ ) da fluorescência transiente $V = f(t)$ .
$S_s = V_j/M_0$	Área total normalizada complementar correspondente apenas a fase OJ (reflete um único volume de eventos de redução de $Q_A$ ).
$S_m = (\text{Area})/(F_M - F_0)$	Área total normalizada complementar acima da curva OJIP (reflete múltiplos eventos de redução da $Q_A$ ).
$N = S_m/S_s$	Número total de elétrons transferidos para a cadeia de transporte de elétrons entre o tempo de 0 et (necessário para atingir $F_M$ ).
Atividade específica por centro de reação (RC)	

$ABS/RC = M_0 (1/V_j) (1/\phi P_0)$	Medida do tamanho aparente do sistema antena ou o fluxo de absorção por RC.
$TR_0/RC = M_0 (1/V_j)$	Máxima taxa pela qual um éxciton é capturado pelo RC resultando em uma redução da plastoquinona ( $QA^-$ ).
$ET_0/RC = M_0 (1/V_j) \Psi_0$	Reoxidação da $QA^-$ via transporte de elétrons em um RC ativo.
$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	Razão de dissipação total de energia de excitação não capturada do total de RC, sendo a dissipação neste caso à perda de energia na forma de calor.
$RE_0/RC$	Redução do acceptor final de elétrons no lado do acceptor de elétrons do FSI por RC.

#### Rendimentos energéticos ou taxas de fluxo

$\phi P_0 = TR_0/ABS = F_v/F_M$	Rendimento quântico máximo fotoquímico.
$\phi E_0 = ET_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de $QA^-$ para o intersistema de aceptores de elétrons.
$\phi D_0 = 1 - \phi P_0 = (F_0/F_M)$	Rendimento quântico para dissipação de energia.
$\phi R_0 = RE_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de $QA^-$ para o acceptor final de elétrons do FSI.

#### Eficiências

$\psi E_0 = ET_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron de $QA^-$ para o intersistema de aceptores de elétrons.
$\rho_0 = RE_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de $QA^-$ para os aceptores finais de elétrons do FSI.
$\delta R_0 = RE_0/ET_0$	Eficiência com que um elétron pode mover o intersistema de aceptores de elétrons reduzidos no intersistema para o acceptor final de elétrons do FSI.

#### Índices de desempenho

$PI_{ABS} = (RC/ABS) B (\phi P_0/10S\phi P_0) 0Si (\Psi_0/10\Psi_0) = (RC/ABS) B (TR_0/DI_0) \times (ET_0/1TSET_0)$	Índice de desempenho fotossintético (conservação de energia a partir do éxciton para a redução dos aceptores de elétrons do intersistema).
$PI_{total} = PI_{ABS} BS (\delta_0/1B\delta_0)$	Índice de desempenho fotossintético total (conservação de energia a partir de éxciton para a redução de aceptores finais do FSI).

### e) Análise dos parâmetros morfológicos da raiz

No momento da coleta, algumas repetições de cada tratamento foram separadas para esta finalidade, em que foram previamente lavadas com água destilada para total remoção do substrato em que foram cultivadas, em seguida, armazenadas em tubo Falcon de 50 ml contendo álcool 50% e acondicionadas sob refrigeração para posterior análise. De acordo com Tavares (2014), o sistema radicular de cada planta de arroz, foi uniformemente distribuído em uma camada de água em uma bandeja transparente de acrílico e a digitalização realizada com uma resolução de 600 dpi com um sistema de digitalização *Epson Expression 10000XL*. Imagens das raízes foram convertidas para um formato em tons de cinza de oito bits. Ainda com base no autor citado anteriormente, as raízes foram individualmente trabalhadas, analisadas e quantificadas um total de 18 características diferentes de raízes: comprimento (mm), área projetada (mm<sup>2</sup>), área superficial (mm<sup>2</sup>), diâmetro médio (mm), volume (mm<sup>3</sup>), número de pontas, número de bifurcações de raiz. E todas estas características mensuradas dentro das três classes de raízes: superfino (0,5 < d < 1,5 milímetros), fino (1,5 < d < 3,5 milímetros) e grossas (d > 3,5 milímetros). Com o uso do software *WinRHIZO Arabidopsis, 2012b* (Régent

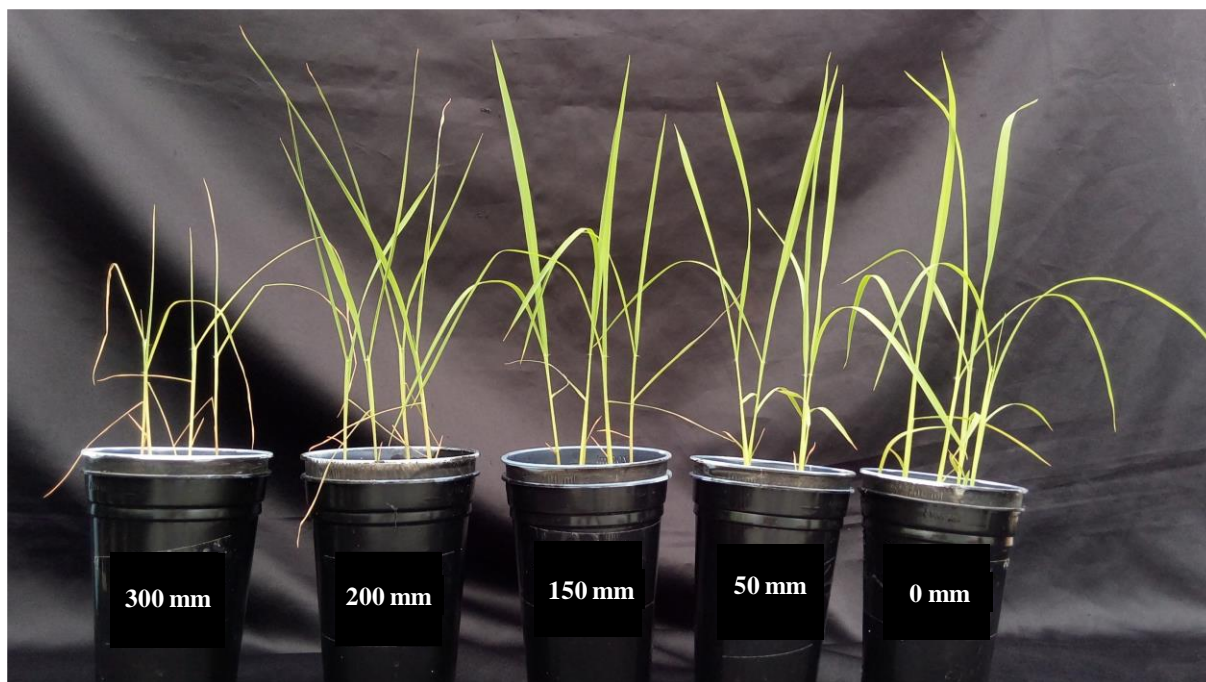
Instruments, Quebec, Canadá Inc.). Foi utilizado o método não estatístico Regent para realizar medições da morfologia radicular em WinRHIZO. Os limites das imagens foram definidos e então importados para o software WinRHIZO para análise de caracteres de raiz e quantificação. Posteriormente, os dados foram analisados através do XLRhizo (Régent Instruments, Quebec, Canadá Inc.). Esses macros adicionam análise e comandos gráficos de raiz aos comandos padrão do Excel (*Microsoft Corp.*) para análise de arquivos de dados produzidos pelo WinRHIZO.

#### **f) Delineamento experimental**

O experimento foi conduzido em cinco tratamentos – 0; 50; 150; 200 e 300 mM de NaCl – e dez repetições. Todos os parâmetros foram analisados por análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para as variáveis de fluorescência transiente da clorofila *a* e percentual de umidade. Os dados de biomassa e morfologia radicular foram avaliados por meio de regressão linear.

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomas visuais de toxicidade foram observados nas folhas de arroz quando submetidas às doses mais elevadas de NaCl (200 e 300 mM) (Figura 4). Tais sintomas, quando comparados com as folhas do controle (Figura 4B), foram caracterizados pela presença de necrose, sendo notório a formação de palha. Não foram observados sintomas visuais de toxicidade nas folhas que receberam tratamento 0 (controle), 50 e 150 mM.

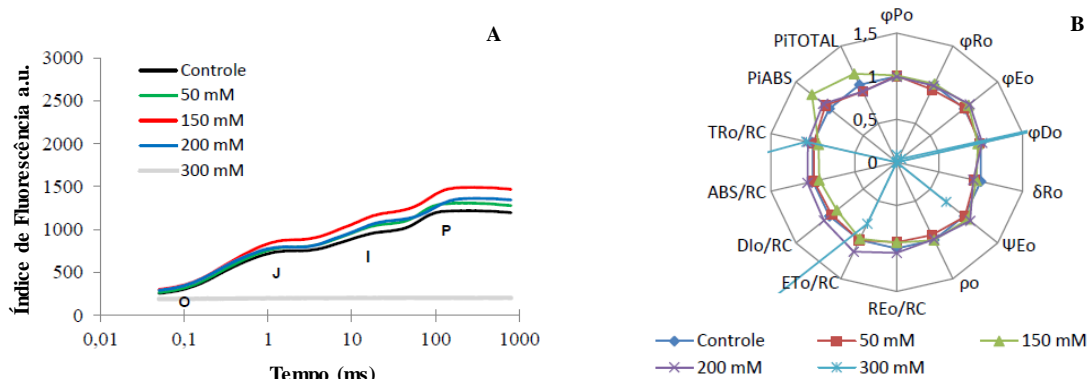


**Figura 4.** Sintomas de toxicidade em folhas de arroz exposta a diferentes concentrações de NaCl (0, 50, 150, 200 e 300 mM) durante 15 dias.

Manchas avermelhadas ao longo das nervuras foliares, amarelecimento/avermelhamento do limbo foliar, queima das bordas e ápice do limbo, necrose nas folhas basais a partir do sexto dia de submissão ao estresse salino, além de senescência precoce já foram descritos na literatura em espécie como aroeira (SILVA et al., 2000) e o cajueiro (VIÉGAS et al., 2004; MORAIS et al., 2007). Sabe-se que um dos primeiros efeitos da salinidade é o estresse osmótico seguido do iônico (MUNNS, 2002). Como as plantas de arroz permaneceram por 15 dias nos diferentes tratamentos com NaCl, tempo de exposição longo ao estresse, é provável que os sintomas observados nesta cultivar seja devido à ocorrência do estresse iônico ocasionado por níveis tóxicos de íons salinos no tecido vegetal foliar o que, de acordo com Nabil & Coudert (1995) pode acarretar em necrose e à morte precoce das folhas.

A salinidade afetou o crescimento das plantas de *Oryza sativa* L. cv. BRS Esmeralda, independentemente da concentração de sal aplicada. Com o estresse, a curva OJIP e os valores da intensidade de fluorescência nos pontos O-J-I-P da espécie vegetal obtidos aos 30 DAS demonstraram que no ponto P (Figura 5A e Tabela 3, respectivamente) houve uma elevação na intensidade e emissão de fluorescência nas doses de 50, 150 e 200 mM de NaCl, em relação ao controle. Em contrapartida, a dose de 300 mM apresentou redução significativa em todos os pontos, perdendo completamente a sua forma sigmoide. E no Teste JIP (Figura 5B), este mesmo tratamento teve uma diminuição do índice de desempenho fotossintético ( $Pi_{ABS}$ ) tendendo a

zero, além de ter sido reduzido significativamente no índice de desempenho fotossintético total ( $Pi_{TOTAL}$ ), quando comparado ao controle (Tabela 4).



**Figura 5.** Dados obtidos na análise de fluorescência da clorofila *a* em *Oryza sativa* L. cv. BRS Esmeralda submetida às diferentes concentrações de NaCl aos 30 DAS. (A) Intensidade de fluorescência da clorofila *a*; (B) Parâmetros do Teste JIP, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1).

**Tabela 3.** Intensidades de fluorescência da clorofila *a* nos passos O (F0), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas aos 30 DAS da espécie *O. sativa* L. cv. BRS Esmeralda submetida as diferentes doses de NaCl.

DOSE (mM)	F0	FJ	FI	FM
0	254,40 NS	749,80 a	984,40 a	1221,00 a
50	268,75	795,50 a	1070,25 a	1311,00 a
150	300,75	879,25 a	1103,40 a	1494,50 a
200	289,8	793,00 a	1201,75 a	1363,60 a
300	188,67	197,67 b	202,33 b	204,33 b
CV	24,2	28,52	28,31	28,09

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *ns* = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

**Tabela 4.** Parâmetros da fluorescência transiente da clorofila *a* obtidos aos 30 DAS da espécie *Oryza sativa* L. cv. BRS Esmeralda submetida às doses de NaCl.

DOSE (mM)	PHI(P0)	ABS/RC	TR0/RC	ET0/RC	DI0/RC	RE0/RC	PI ABS	PI TOTAL
0	0,79 a	2,47 b	1,95 ns	0,97 ns	0,52 b	0,49 ns	1,56 a	1,68 a
50	0,79 a	2,59 b	1,00	1,00	0,54 b	0,47	1,42 a	1,27 a
150	0,80 a	2,41 b	0,99	0,99	0,49 b	0,47	1,77 a	1,62 a
200	0,42 b	2,78 b	1,17	1,17	0,59 b	0,53	1,52 a	1,28 a
300	0,04 c	27,06 a	1,09	1,09	25,09 b	0,41	0,00 b	0,01 b
CV (%)	2,51	48,97	8,64	15,24	66,66	29,99	22,07	34,65

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *ns* = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.



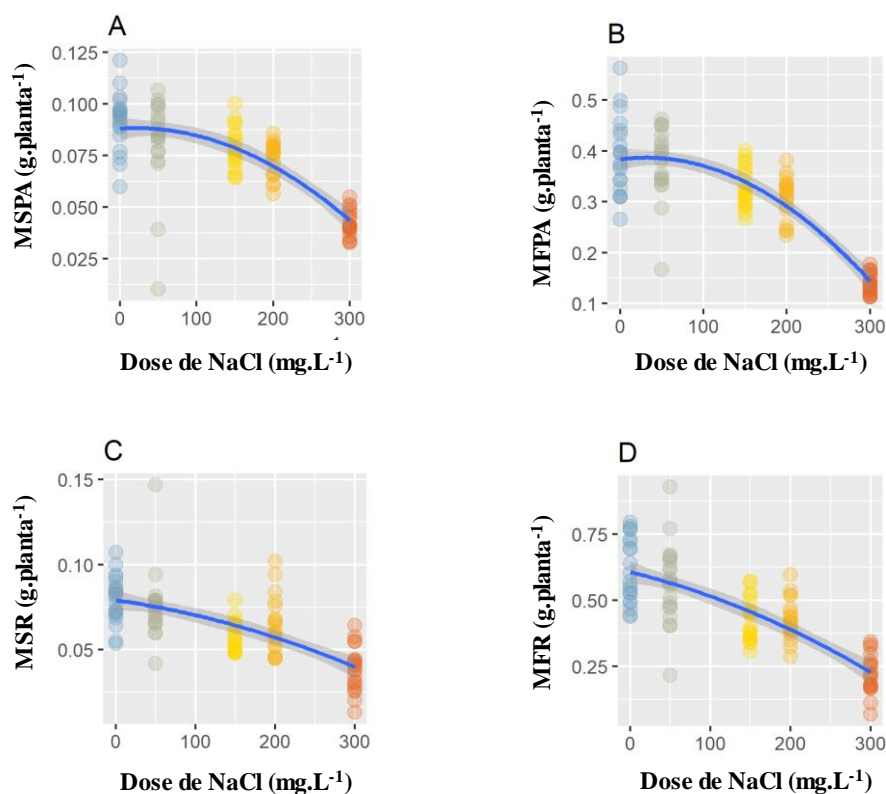
Consequentemente, devido aos processos de emissão da fluorescência, como a dissipação de calor ( $DI_0/RC$ ) e produção fotoquímica ( $\phi P_0$ ) ocorrerem em competição direta, essa drástica redução do desempenho fotossintético levou ao aumento da perda de energia na forma de calor ( $DI_0/RC$ ), sendo a máxima dose dos tratamentos que apresentou o maior valor deste aumento, assim como, estatisticamente elevou o tamanho do sistema antena ( $ABS/RC$ ) (Tabela 4). Meloni et al. (2003) relataram que a diminuição da fotossíntese poderia ser influenciada diretamente pelo fechamento dos estômatos ou pelo efeito do estresse salino sobre o aparato fotossintético. O declínio perceptível no valor de  $F_M$  (Tabela 3) respectivo ao tratamento de máxima concentração é um resultado congruente com os valores observados em cultivares de arroz expostas ao estresse salino que apresentaram mortalidade sob uma concentração de NaCl equivalente a condutividade elétrica de  $6 \text{ Ds m}^{-1}$  (Singh e Sarkar, 2014).

A densidade dos centros de reação ativos (RC) indica o número de RCs ativos na seção transversal do PSII, enquanto sua diminuição reflete uma conversão de RCs ativos em inativos (Mehta et al., 2010). Os RCs inativos podem prender o fluxo de energia com eficiência, mas falham na redução do aceitador de elétrons ( $Q_A$ ) na cadeia de transporte de elétrons fotossintética. Consequentemente, os RCs dissipam toda a sua energia na forma de calor. A fase inicial da salinidade é caracterizada por desequilíbrio hídrico derivado do estresse hiperosmótico (Rachoski et al., 2015).

Nos cloroplastos, a limitação da fixação de  $CO_2$  atrelada à redução excessiva das cadeias de transporte de elétrons é a principal causa da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). Sempre que a dissipação fotoquímica e os mecanismos fotoprotetores são insuficientes, a clorofila excitada reage com o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) e espécies de oxigênio especialmente reativas com o ácido graxo poliinsaturado (MØLLER et al., 2007). Ainda de acordo com estes autores, o malondialdeído (MDA) é um produto final do ácido linoleico peroxidado, que é o principal ácido graxo dos galactolípídeos das membranas dos tilacóides das plantas. Representa cerca de 1% da composição de ácidos graxos no arroz (LUGAY & JULIANO, 1964). A peroxidação extensiva de ácidos graxos poli-insaturados causa modificação oxidativa nas proteínas dos tilacóides do PSII, afetando a função normal do PSII (OKADA et al., 1996; MØLLER et al., 2007; YAMAUCHI et al., 2008; YAMAUCHI & SUGIMOTO, 2010).

Diversos estudos comprovam que a redução no crescimento das plantas pode ser acompanhada por decréscimo na taxa de fotossíntese (AZEVEDO-NETO et al., 2004; OMOTO et al., 2010; ZAHRA et al., 2014). Em virtude desse impacto notório gerado nos processos do metabolismo primário, pode-se constatar com a produção de biomassa (Figura 6) que houve de fato interferência direta no seu rendimento nas doses mais altas de 200 mM e 300 mM de NaCl, em que tanto a massa da parte aérea e a do sistema radicular decrescem, assim o estresse salino limitou severamente o crescimento das plantas, sendo os efeitos mais pronunciados na máxima concentração que reduziu significativamente a massa fresca da parte aérea (MFPA) quando comparada ao controle, em que também foi possível verificar este impacto nas raízes (Figura 7). Alguns estudos apontam o acúmulo de biomassa como um índice essencial para avaliar o grau de tolerância das plantas à estresses abióticos (JANMOHAMMADI et al., 2012).

Zahra et al. (2014) em estudos com algumas cultivares de trigo com tolerância diferencial à salinidade, observaram que houve redução do crescimento tanto na parte aérea como nas raízes devido ao estresse salino (150 e 300 mM de NaCl), entretanto esta atenuação foi relativamente menor no genótipo tolerante. Sob o tratamento com NaCl, as raízes de arroz absorvem o  $Na^+$  da solução do solo, submetendo às plantas tanto ao estresse osmótico como ao iônico, devido à alta concentração do  $Na^+$ . Este fato tem sido demonstrado em alguns estudos anteriores com elevadas concentrações do mesmo em solução nutritiva ou no próprio solo (YEO e FLOWERS, 1989).



**Figura 6.** Produção de biomassa de plantas de arroz da variedade BRS Esmeralda submetidas a diferentes concentrações de NaCl. Massa seca da parte aérea (MSPA, A); Massa fresca da parte aérea (MFPA, B); Massa seca da raiz (MSR, C); Massa fresca da raiz (MFR, D).



**Figura 7.** Influência do estresse salino no crescimento do sistema radicular de arroz cv. BRS Esmeralda após 15 dias de exposição às doses crescentes de NaCl.

A redução e/ou inibição do crescimento e a produção de fitomassa causadas pela salinidade tem sido amplamente notificado em outras espécies como *Ricinus communis* L. (PINHEIRO et al., 2008), *Anarcadium occidentale* L. (FERREIRA-SILVA et al., 2008), *Schinopsis* spp. (OUESLATI et al., 2010) e *Jatropha curcas* (SILVA et al., 2009; DÍAZ-LÓPEZ et al., 2012). Tal fenômeno é atribuído a: i) mudanças drásticas no estado hídrico da planta devido à disrupção na homeostase do potencial de água causada pelo efeito osmótico; ii) toxicidade iônica devido ao desbalanço iônico, gerando danos metabólicos, fisiológicos e estresse oxidativo e iii) desequilíbrio nutricional provocado pela interferência na absorção de nutrientes essenciais (MUNNS, 2006; MUNNS & TESTER, 2008). Com base nisso, a avaliação do percentual de umidade (%U) é considerada uma das avaliações mais utilizadas para determinar

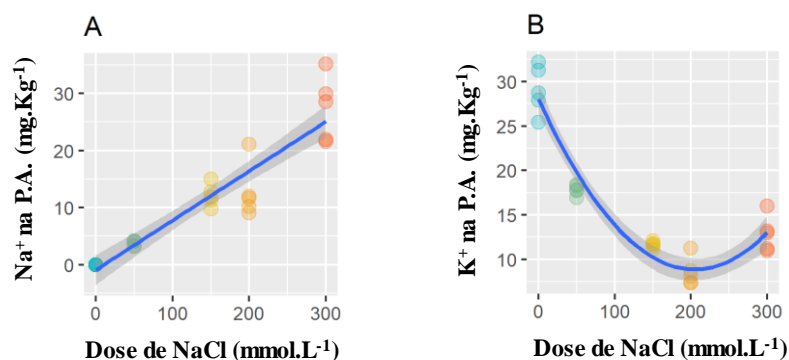
os efeitos fisiológicos do déficit de água nas células vegetais. Mensurando o estado hídrico da planta e exprime a quantidade absoluta de água que ela precisa para alcançar a saturação total em um determinado momento (GONZÁLES & GONZÁLES-VILAR, 2001).

A Tabela 5 mostra o percentual de umidade (%U) das plantas de arroz submetidas a cinco concentrações de estresse salino, sendo uma destas o controle. O %U apresentou uma redução significativa tanto do sistema radicular quanto da parte aérea, quando o tratamento foi com a máxima dose, emitindo assim, o menor percentual hídrico. O *status* da água é altamente sensível à salinidade e, portanto, é dominante na determinação das respostas das plantas ao estresse (Yeo et al., 1985). De acordo com Munns (1993), a redução observada é resultado da elevada concentração de sal na solução externa, que acarreta em um estresse osmótico e desidratação a nível celular. Os sintomas de desidratação foram maiores no tratamento com 300 mM de NaCl do que no tratamento de 50 mM, porque concentrações mais altas de cloreto de sódio aumentam a perda de água celular (STEPIEN & KLOBUS, 2006). Ainda de acordo com estes autores, em particular, a salinidade altera as taxas de absorção e a própria absorção de todos os nutrientes minerais, resultando em sintomas de deficiência. No entanto, há evidências de que as espécies glicofíticas e halofíticas se ajustam à alta concentração de sal, diminuindo os potenciais osmóticos teciduais com um aumento do acúmulo de íons inorgânicos nos tecidos (Cachorro et al., 1995). Embora, o ajuste osmótico tenha sido alcançado pela captação de íons inorgânicos, isso também pode levar a problemas de compartimentação de íons e a um declínio celular (Rivelli et al., 2002). Foi possível notar que as doses crescentes de NaCl diminuem o acúmulo de K<sup>+</sup> (Figura 8-B). É provável que a redução na captano teor de K<sup>+</sup> causada pelo Na<sup>+</sup> seja consequência do influxo intracelular competitivo de ambos os íons (Cerda et al., 1995) e também para manter o equilíbrio osmótico e de cargas. Alguns estudos já comprovaram que muitos sistemas de transporte de K<sup>+</sup> têm afinidade com Na<sup>+</sup> (Blumwald et al., 2000; Schachtman e Liu, 1999).

**Tabela 5.** Indicador de estresse hídrico em raízes e partes aéreas de arroz submetido a diferentes concentrações de NaCl (0 mM – controle; 50 mM; 150 mM; 200 mM e 300 mM) durante 15 dias.

<b>PERCENTUAL DE UMIDADE (%)</b>		
<b>Tratamentos (mM)</b>	<b>Raiz</b>	<b>Parte Aérea</b>
0	87 a	76 a
50	86 ab	78 a
150	86 ab	76 a
200	85 ab	76 a
300	82 b	70 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 1% de probabilidade. Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,01$ ).



**Figura 8.** Absorção de sódio (A) e de potássio (B) na parte aérea de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. BRS Esmeralda submetidas às diferentes concentrações de NaCl.

As plantas que receberam a dose mais baixa de NaCl não mostraram uma alteração brusca na morfologia das raízes (Figura 9) e como visto também na produção de fitomassa (Figura 6) quando comparadas ao controle, portanto, estavam com uma maior condutividade hidráulica e fluxo de íons dissolvidos para as partes aéreas. As diferenças obtidas nas plantas que receberam as demais doses de NaCl (150 e 200 mM) podem ser correlacionadas com diferentes níveis de captação de nutrientes, fluxo de água e íons das raízes para a parte aérea e, por conseguinte, um conteúdo variável de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> na parte aérea. Não obstante, o crescimento e desenvolvimento radiculares das que receberam a máxima concentração de NaCl (300 mM) foram fortemente inibidos, acarretando na mortalidade devido à falha na tolerância ao Na<sup>+</sup>, provocado pela toxidez. Resultados semelhantes sobre o crescimento radicular foram obtidos em mutantes de arroz sensíveis ao sal (Toda et al., 2013).

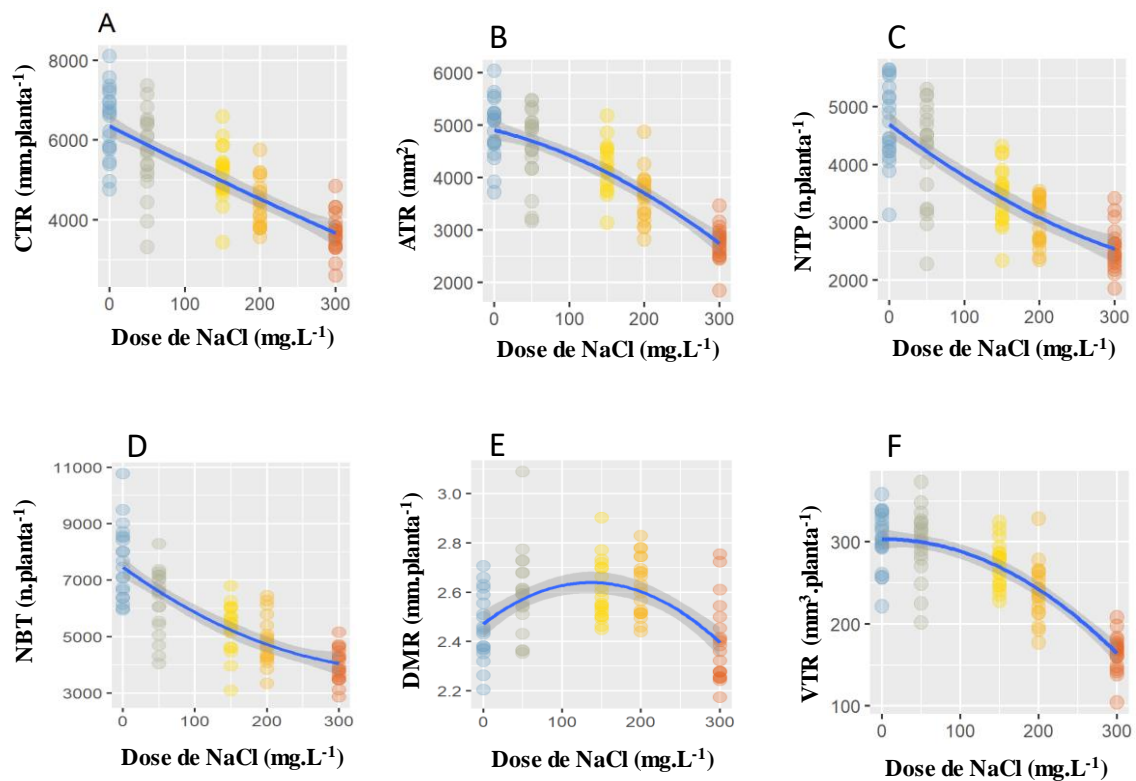
O equilíbrio iônico apoplástico é comumente alterado mediante a um estresse salino (Krishnamurthy et al., 2011), afetando a pressão do turgor. Os resultados demonstram um aumento no teor de Na<sup>+</sup> na parte aérea proporcionalmente ao aumento dos níveis de NaCl. A retenção de íons Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> na parte aérea sugere uma baixa relação K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>, propondo que não houve um controle rigoroso sobre a extrusão, sequestro e carregamento de Na<sup>+</sup> nos xilemas.

A redução nos parâmetros de crescimento das plantas (biomassa das raízes e parte aérea), menor conservação da água, e crescimento das raízes modificado, juntamente com o desequilíbrio do K<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup>, apresentam uma forte correlação com os danos letais constatados nas plantas sob a dose máxima de estresse.

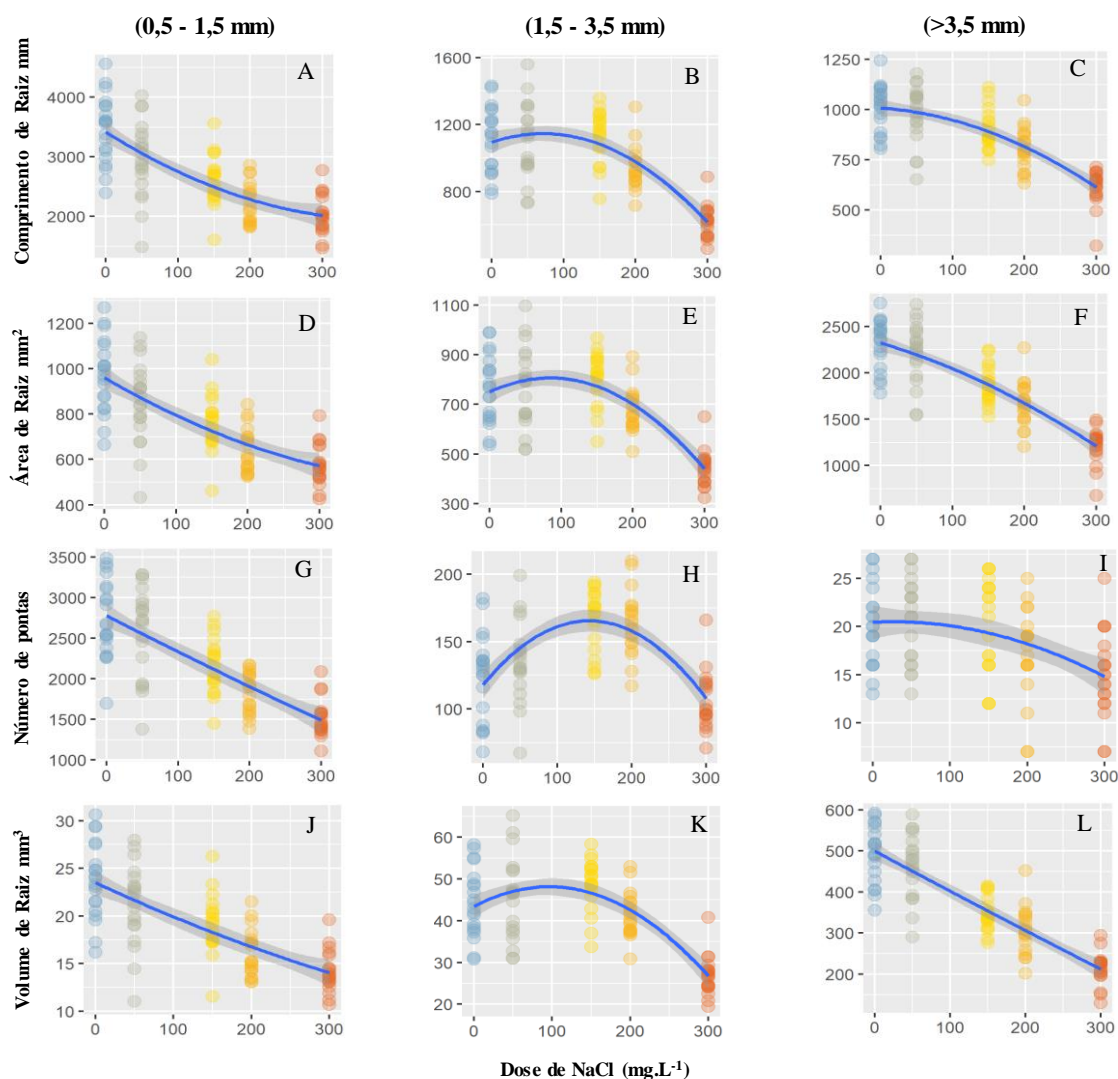
Resultados relatados por outros autores, também demonstraram que no decorrer da desidratação foliar, toda a cadeia de transporte de elétrons foi afetada (Cornic e Massacci, 1996). Corroborando assim, os resultados obtidos através da análise da fluorescência transiente da clorofila *a*, que apontaram para um aumento na quantidade da forma reduzida de plastoquinona Q<sub>A</sub> e, conseqüentemente, uma menor eficácia de transferência da cadeia de transporte de elétrons (ET<sub>0</sub>/RC). Também foi relatado por Cornic (2000), que tanto a salinidade quanto a seca causaram um aumento reversível na dissipação térmica da energia capturada pelo PS II, que contribuiu para o efeito deletério da luz excessiva durante a assimilação reduzida de CO<sub>2</sub>. Tal dissipação térmica também foi observada (Figura 5-B e Tabela 3) devido a presença de NaCl.

O fechamento estomático é um mecanismo eficaz para a utilização econômica da água sob estresse salino e limitação da captação prejudicial de íons salinos (HASEGAWA et al., 2000). Em mudas de pepino cultivadas sob estresse salino, a eficiência no uso da água foi significativamente modificada como resultado de alterações relatadas na taxa fotossintética líquida e na taxa de transpiração (STEPIEN & KLOBUS, 2006).

Para verificar os impactos ocasionados pelo estresse salino na planta como um todo e tendo em vista que a raiz é o principal órgão que explora além da água, os nutrientes do solo, sendo o conteúdo iônico e o estado da água do solo que interferem diretamente na arquitetura das raízes, garantindo a sobrevivência e o crescimento (JULKOWSKA et al., 2014). A análise morfológica das raízes (Figura 9 e 10) apresentou diferenças na arquitetura do sistema radicular em resposta ao estresse salino, o que também pode ser correlacionado ao comprometimento da condutividade hidráulica e a conservação da água somada a falta de carboidratos que seriam produzidos pela fotossíntese e foi severamente prejudicada (Figuras 5A e 5B).



**Figura 9.** Dose-resposta de NaCl sobre comprimento, área superficial, número de pontas, número de bifurcações, volume e diâmetro médio das raízes em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda após 15 dias. Cada ponto corresponde à média de 20 plantas. (A) Comprimento Total da Raiz; (B) Área Total da Raiz; (C) Número Total de Pontas; (D) Número de Bifurcações Totais; (E) Diâmetro Médio da Raiz; (F) Volume Total da Raiz.



**Figura 10.** Dose-resposta de NaCl sobre classes de raízes superfino ( $0,5 < d < 1,5$  milímetros), fino ( $1,5 < d < 3,5$  milímetros) e grossa ( $d > 3,5$  milímetros) em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda. Cada ponto corresponde à média de 20 plantas.

O estresse salino influenciou negativamente a maioria dos parâmetros radiculares, conforme revelado pela análise quantitativa das raízes pelo software WinRHIZO *Arabidopsis*, 2012b. As plantas foram severamente inibidas de crescer o sistema radicular dentro dos 15 dias expostas ao tratamento do sal (Figuras 9). Todavia, algumas não conseguiram responder ao estresse salino ocasionando em sua perda.

As raízes do arroz são caracterizadas como fibrosas e finas, com diâmetro médio inferior a 0,5 mm (Gu et al., 2017). O sistema radicular do arroz consiste em uma raiz nodal central com o maior diâmetro e serve como o principal caminho para o fluxo de água e nutrientes para as partes aéreas. As raízes laterais emergem da raiz nodal e ramificam-se para formar um novo sistema radicular lateral superior que forma o principal local de absorção de água e nutrientes (ROBIN & SAHA, 2015).

As plantas foram reduziram a densidade radicular (volume e massa – Figuras 9 e 6, respectivamente), diminuindo os parâmetros morfológicos da raiz, devido ao estresse osmótico e iônico nos tratamentos. Também se constatou a diminuição no comprimento das raízes,

inclusive as laterais (número de bifurcações) sendo mais agressivo nas altas concentrações dos tratamentos (200 e 300 mM). Esses dados sobre o comprimento total da raiz em resposta ao estresse salino são consistentes com alguns estudos anteriores sobre o trigo (SHAHZAD et al., 2012) e *Arabidopsis* (BRUSSENS et al., 2000), enquanto contrastam com os resultados em grão de bico (BOOMINATHAN et al., 2004) e posteriormente, em *Arabidopsis* (HE et al., 2005) que demonstraram um incremento na massa lateral da raiz com elevados níveis de NaCl para combater o comprometimento hidráulico da raiz (Krishnamurthy et al., 2011).

Além do comprimento e número de bifurcações, foi possível observar uma redução na área superficial (Figura 9B) e número de pontas (Figura 9C) nas plantas tratadas com NaCl, quando comparadas ao controle (Figura 9). Resultados semelhantes foram relatados por Roger e colaboradores (2016) por meio de tomografia computadorizada de raios-X em raízes de arroz. A redução do diâmetro médio na dose de 300 mM pode estar relacionada a um risco reduzido de cavitação do xilema (Gowda et al., 2011) ou a um mecanismo estratégico de aumentar sua eficiência no suprimento de água e nutrientes. Já a redução no quesito área da superfície sugere redução da densidade das raízes laterais, uma vez que há uma relação diretamente proporcional em que quanto menor a massa e o volume, menor será a área superficial. Enquanto um número menor de pontas especifica uma redução significativa nas zonas meristemáticas, de alongamento e de absorção de água. Uma diminuição similar no comprimento e na biomassa foi relatada em raízes de cevada (SHABALA et al., 2003) *Arabidopsi thaliana* (Wang et al., 2008) e arroz (Gu et al., 2017) sob estresse hídrico. Essa redução na densidade da raiz lateral e consequente área superficial pode ser de natureza adaptativa, visto que as raízes laterais finas são fáceis de murchar, principalmente em condições de estresse hídrico (Kawada, 1984).

### 3.6 CONCLUSÕES

A maior concentração salina (300mM) desencadeou danos fisiológicos em algumas etapas da fotossíntese como, no transporte de elétrons e, sobre o rendimento quântico fotossintético, levando ao decréscimo da produção de biomassa em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda.

Houve influência negativa no crescimento do sistema radicular sob os diferentes níveis de salinidade. Entretanto, a máxima concentração provocou maior redução nas características morfológicas quantificadas, afetando o comprimento, número de raízes, exercendo efeitos nocivos no crescimento e desenvolvimento da planta. Esse efeito prejudicial pode acarretar em um decréscimo na capacidade de absorção de água e nutrientes, diminuindo, conseqüentemente, a quantidade de nutrientes disponíveis para serem translocados para os demais órgãos, interferindo na produtividade. Interferiu negativamente na retenção de íons  $K^+$  na parte aérea, ficando evidente à medida que as doses de NaCl aumentavam e com isso houve um maior influxo de  $Na^+$ .

Contudo, ficou evidente que as doses toleradas pelo vegetal em questão foram 150 mM e 200 mM de NaCl.



## **4. CAPÍTULO 2**

**OBTENÇÃO DA DOSE-RESPOSTA DE SUBSTÂNCIA HÚMICA EXTRAÍDA DE  
VERMICOMPOSTO E SUA INFLUÊNCIA NA FISIOLOGIA E MORFOLOGIA DE  
*Oryza sativa* L.**

## 4.1 RESUMO

A vermicompostagem é considerada uma prática altamente sustentável, em que há uma transformação da matéria orgânica através da ação combinada das minhocas e os microrganismos que vivem em seu trato digestivo, responsáveis por garantir uma maior estabilização dos resíduos, pois os mesmos sofrem reações enzimáticas adicionais que os convertem de forma acelerada em substâncias húmicas. Essa técnica permite um menor uso de insumos e possibilita uma produção mais equilibrada ecologicamente. As Substâncias Húmicas expressam muitos efeitos benéficos tanto direto como indiretamente no desenvolvimento das plantas. Os efeitos indiretos estão atrelados ao papel que as SH podem exercer na fertilidade do solo e assim, favorecer os processos nutricionais das plantas como: maior absorção de nutrientes, aumento da população microbiana e da capacidade de troca catiônica (CTC), poder tampão dos nutrientes no solo, fornecimento de compostos químicos específicos para o vegetal. Já os efeitos diretos estão associados às modificações que a SH promove em diferentes processos e rotas metabólicas ds plantas por meio de interações que estabelecem com os distintos tecidos vegetais. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi caracterizar, por espectroscopia CP MAS  $^{13}\text{C}$ -RMN, a substância húmica isolada de vermicomposto e avaliar seus efeitos aplicados à solução nutritiva em arroz, determinando-se os parâmetros morfofisiológicos do sistema radicular, a intensidade da cinética de fluorescência transiente da clorofila *a* e o fluxo de energia através dos centros de reações do fotossistema II (FSII). As plantas foram crescidas em casa de vegetação, e após o transplântio foi aplicada a substância húmica em diferentes concentrações: 0; 1; 5; 10; 20; 40; 60; 80 e 100 mg (SH) L<sup>-1</sup> e momentos diferentes de submissão e avaliações. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com nove concentrações de SH, cinco repetições e cinco horários diferentes de coletas. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias da análise de fluorescência foram comparadas pelo teste de Tukey. A SH-Vc caracterizada apresentou maiores percentuais em estruturas alifáticas do tipo C<sub>ALK-H, R</sub> (21,43%), C<sub>ALK-O, N</sub> (17,34%) e C<sub>ALK-O</sub> (18,36%). Os resultados demonstraram que os tratamentos de 40 e 60 mg. L<sup>-1</sup> foram eficientes em promover um incremento significativo no desenvolvimento radicular apresentando uma resposta quadrática à adição de substância húmica e aos momentos de avaliação, por conseguinte, influenciaram positivamente no desempenho fotossintético, no aumento da dissipação de energia em forma de calor e no sistema do complexo antena.

**Palavras-chave:** Ácido húmico. Bioatividade. Sistema radicular. Fotossíntese.

## 4.2 ABSTRACT

Vermicomposting is considered a highly sustainable practice, in which there is a transformation of organic matter through the combined action of earthworms and the microorganisms that live in their digestive tract, responsible for ensuring greater stabilization of the residues, as they undergo additional enzymatic reactions that convert them quickly into humic substances. This technique allows less use of inputs and enables a more ecologically balanced production. Humic Substances express many beneficial effects both directly and indirectly on plant development. The indirect effects are linked to the role that SH can play in soil fertility and, thus, favor the nutritional processes of plants such as: greater nutrient absorption, increased microbial population and cation exchange capacity (CTC), buffering power of nutrients in the soil, supply of specific chemical compounds for the plant. The direct effects are associated with the changes that SH promotes in different processes and metabolic routes of plants through interactions that they establish with different plant tissues. Thus, the objective of this study was to characterize, by CP MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy, the humic substance isolated from vermicompost and to evaluate its effects applied to the nutrient solution in rice, determining the morphophysiological parameters of the root system, the intensity of the kinetics of transient fluorescence of chlorophyll *a* and the flow of energy through the reaction centers of photosystem II (FSII). The plants were grown in a greenhouse, and after transplanting the humic substance was applied in different concentrations: 0; 1; 5; 10; 20; 40; 60; 80 and 100 mg (SH)  $\text{L}^{-1}$  and different times of submission and evaluations. The experimental design was in randomized blocks, with nine concentrations of SH, five replications and five different collection times. The data were submitted to ANOVA and the averages of the fluorescence analysis were compared by the Tukey test. The characterized SH-Vc showed higher percentages in aliphatic structures of type  $\text{C}_{\text{ALK-H, R}}$  (21.43%),  $\text{C}_{\text{ALK-O, N}}$  (17.34%) and  $\text{C}_{\text{ALK-O}}$  (18.36%). The results showed that the 40 and 60 mg.  $\text{L}^{-1}$  treatments were efficient in promoting a significant increase in root development, presenting a quadratic response to the addition of humic substance and the evaluation moments, therefore, positively influenced the photosynthetic performance, in the increased heat dissipation in the form of heat and in the complex antenna system.

**Keywords:** Humic acid. Bioactivity. Root system. Photosynthesis.

### 4.3 INTRODUÇÃO

Novas tecnologias em prol de uma produção sustentável vêm sendo desenvolvidas e adotadas em diversas regiões do país, a fim de alcançar maiores produtividades das culturas sem aumentar a abertura para exploração de novas áreas e associados a estes sistemas, há o uso crescente de produtos de controle hormonal (Vasconcelos, 2016). Os bioestimulantes são ainda, descritos por Russo e Berlyn (1992), como produtos não nutricionais, que podem reduzir o uso de fertilizantes e aumentar a produção e a resistência aos estresses causados por condições adversas.

Os principais componentes de bioestimulantes comercialmente disponíveis podem incluir materiais húmicos. Uma prática bem estabelecida é a utilização de biotecnologia artesanal, para a produção de compostos orgânicos que existem naturalmente e podem ser aplicados como biofertilizantes (Rodda et al., 2006). Nesse sentido, o uso de vermicomposto tem sido muito promissor (Canellas et al., 2002).

A vermicompostagem é a transformação da matéria orgânica, decorrente da ação combinada das minhocas e dos microrganismos que vivem em seu trato digestivo, aumentando a velocidade de decomposição dos resíduos orgânicos (Albanell et al., 1988). Uma das peculiaridades do vermicomposto é sua maior estabilização dos resíduos que, ao passarem pelo trato digestivo da minhoca, sofrem reações enzimáticas adicionais, convertendo de forma acelerada os resíduos em substâncias húmicas (SH) (Almeida, 1991).

As substâncias húmicas não apresentam características químicas e físicas bem definidas, ou seja, apresentam estruturas complexas, constituídas de estruturas poliméricas amorfas em vários graus de polidispersão, caráter ácido, predominantemente aromático, hidrofílicas, natureza polieletrólítica e massa molecular entre algumas centenas até milhares (Cotta, 2019). São constituintes da maior parte da matéria orgânica de solos e sedimentos, responsáveis pela melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas, especialmente na rizosfera (Santos e Camargo, 1999). As frações húmicas mais importantes quanto à reatividade e de maior ocorrência nos ecossistemas são os ácidos húmicos e ácidos fúlvicos. Os grupos funcionais predominantes nas substâncias húmicas são os oxigenados, principalmente carboxílicos (COOH), hidroxilas (OH), carbonilas (C=O), metoxilas (OCH<sub>3</sub>) e, ocasionalmente, ésteres (COOR) e éteres (COC) (Hayes et al., 1989; García et al., 2019). Contudo, as características específicas estruturais das SH e suas frações variam conforme a fonte de origem e o tempo de transformação da matéria orgânica na fonte (Berbara e García, 2014).

Diante da grande diversidade e complexidade estrutural das SH, existe a necessidade de uma melhor compreensão de suas funções nos sistemas agrícolas e no ciclo global do carbono (Bayer et al., 2002), para isso têm sido usadas diversas técnicas analíticas químicas e espectroscópicas evidenciando-se a análise elementar, a ressonância magnética nuclear de carbono (<sup>13</sup>C-RMN), a pirólise acoplada a cromatografia gasosa e espectrometria de massa (Py-GC/MS), a espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), ultravioleta visível (UV-Vis) entre outras (NOVOTNY, 2004; PRIMO et al., 2011; PEÑA-MENDEZ et al., 2007), para estudar suas características químicas.

Neste sentido, há muitos estudos de caracterização de SH que manuseiam conjuntamente várias técnicas de análise das diferenças estruturais destas substâncias oriundas de diversas fontes. Técnicas que podem ser apontadas como uma ferramenta fundamental para avaliar o papel das SH nos processos agrícolas e ambientais (MARTINEZ-BALMORI et al., 2014). Tendo em vista que as técnicas de espectroscopia, como a análise de <sup>13</sup>C-RMN tem permitido observar a existência de uma relação entre os atributos químicos da SH, independente da sua fonte e sua formação (DOBBSS et al., 2009), proporcionando um melhor entendimento de como afetam os processos de humificação e a qualidade da matéria orgânica de materiais compostados. Pouco se conhece sobre a ação das SH no metabolismo primário, especificamente

a fotossíntese e sua relação com a morfologia radicular. Com isso, o objetivo deste capítulo foi extrair e caracterizar a substância húmica íntegra (SH) oriunda de vermicomposto, e posteriormente, avaliar em momentos diferentes o efeito dose-resposta de concentrações crescentes de SH sobre a cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a* e, sobre a morfologia do sistema radicular de plântulas de arroz.

## 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.4.1. Localização da área para coleta das amostras de vermicomposto

O vermicomposto (Vc) utilizado foi produzido a partir de esterco bovino, proveniente de vacas leiteiras e processado por minhocas vermelhas africanas (*Eudrilus eugeniae*) durante 70 dias, no Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) – Fazendinha Agroecológica da Embrapa Agrobiologia, localizado no Município de Seropédica, Rio de Janeiro. As amostras de vermicomposto humificado foram peneiradas, para a retirada das minhocas e deixado secar a sombra.

### 4.4.2. Extração da Substância Húmica

A substância húmica utilizada tinha em sua composição as frações de ácido húmico e ácido fúlvico (AH + AF) e foi extraída com o hidróxido de potássio ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) para o preparo da solução extratora. Para realizar a extração, uma quantidade do extrator foi adicionada ao vermicomposto em atmosfera inerte de  $\text{N}_2$  em razão de 10:1 (v:m). A mistura foi agitada durante 16 horas e posteriormente deixada em repouso por aproximadamente 3 horas. Em seguida, o sobrenadante foi coletado mediante centrifugação (5000 rpm) e submetido à filtração para se obter a substância húmica e ajuste para pH 7,0, segundo a metodologia da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (Swift, 1996).

### 4.4.3. Caracterização espectroscópica por ressonância magnética nuclear em estado sólido do isótopo do $^{13}\text{C}$ em polarização cruzada e rotação no ângulo mágico (CP MAS $^{13}\text{C}$ -NMR)

A espectroscopia de polarização cruzada com rotação em torno do ângulo mágico CP MAS  $^{13}\text{C}$ -RMN foi realizada no aparelho Bruker AVANCE II RMN A 400 MHz, equipado com probe de 4mm Narrow MAS e operando em sequência de ressonância de  $^{13}\text{C}$  a 100.163 MHz. Para a obtenção dos espectros, as amostras dos materiais humificados foram colocadas em um rotor (porta-amostra) de Dióxido de zircônio ( $\text{ZrO}_2$ ) com tampas de Kel-F sendo a frequência de giro de  $8 \pm 1 \text{ KHz}$ . Os espectros são obtidos pela coleta de 2048 data points para igual número de *scans* a um tempo de aquisição de 34 ms e com *recycle delay* de 5 s. O tempo de contato para a sequência em rampa de 1H ramp é de 2 ms. A coleta e a elaboração espectral foram realizadas utilizando o Software Bruker Topsin 2.1. Os decaimentos livres de indução (FID) foram transformados aplicando um *zero filling* igual a 4 k e posteriormente um ajuste por função exponencial (*line broadening*) de 70 Hz.

As regiões dos espectros foram integradas para a obtenção da quantidade relativa de estruturas, assim as regiões foram divididas em: alquil – C ( $\text{C}_{\text{Alq-H,R}}$ ): 0–46 ppm; metoxilas e N–alquil C ( $\text{C}_{\text{Alq-O,N}}$ ): 46–59 ppm; O–alquil C ( $\text{C}_{\text{Alq-O}}$ ): 59–91 ppm; di–O–alquil C (carbono anoméricos) ( $\text{C}_{\text{Alq-di-O}}$ ): 91–110 ppm; carbono aromático ( $\text{C}_{\text{Ar-H,R}}$ ): 110–142 ppm; O–aromático C ( $\text{C}_{\text{Ar-O}}$ ): 142–156 ppm; carboxila C ( $\text{C}_{\text{COO-H,R}}$ ): 156–186 ppm e carbonilas C ( $\text{C}_{\text{C=O}}$ ): 186–230 ppm.

A aromaticidade foi calculada segundo a fórmula:  $(\text{C}_{\text{Ar-H,R}}) + (\text{C}_{\text{Ar-O}}) * 100 / \text{área total}$ , assim a alifaticidade foi calculada como:  $100 - \text{Aromaticidade} (\%)$ . O índice de hidrofobicidade (HB/HI) foi calculado como segue:  $(0 \text{ ppm} - 46 \text{ ppm}) + (110 \text{ ppm} - 156 \text{ ppm}) / (46 \text{ ppm} - 110 \text{ ppm}) + (156 \text{ ppm} - 240 \text{ ppm})$  (García, 2016).

Os espectros  $^{13}\text{C}$ -NMR da substância húmica (AH + AF) foram carregados a partir do software ACD/Spectrus Processor 2019 1.2 e normalizados segundo a normalização por área.

A faixa selecionada para conformar as matrizes de dados espectrais  $^{13}\text{C}$ -NMR foi desde -20 ppm até 240 ppm, os valores fora desta faixa foram descartados para evitar falsas contribuições nas análises.

#### 4.4.5. Condução do Experimento e Aplicação da SH extraída

Foi realizado um ensaio experimental utilizando plantas de *Oryza sativa* L. cv BRS Esmeralda. Foram semeadas em vasos plásticos (4 litros) contendo água e quando germinaram (quatro dias após semeadura – DAS) receberam solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada com  $\frac{1}{4}$  da força iônica (f.i.). O experimento foi realizado em casa de vegetação. Oito dias após a semeadura (DAS) foram transplantadas para vasos de 700 mL. Os vasos foram preenchidos com areia previamente lavada e autoclavada utilizando a mesma solução nutritiva modificada, porém à  $\frac{1}{2}$  f.i. As plantas com quatro dias após o transplante (DAT) receberam os tratamentos de substâncias húmicas (SH) extraída de vermicomposto via sistema radicular, que foram dissolvidas na solução com as seguintes concentrações: 0; 1; 5; 10; 20; 40; 60; 80 e 100 mg/L de SH. Com a finalidade de estabelecer a concentração a ser selecionada que promovesse o máximo crescimento das plantas. As mesmas foram reaplicadas duas vezes de acordo com a troca da solução nutritiva que foi realizada de três em três dias. As plantas foram avaliadas às 24, 48, 72, 96 e 144 horas (Figura 10).

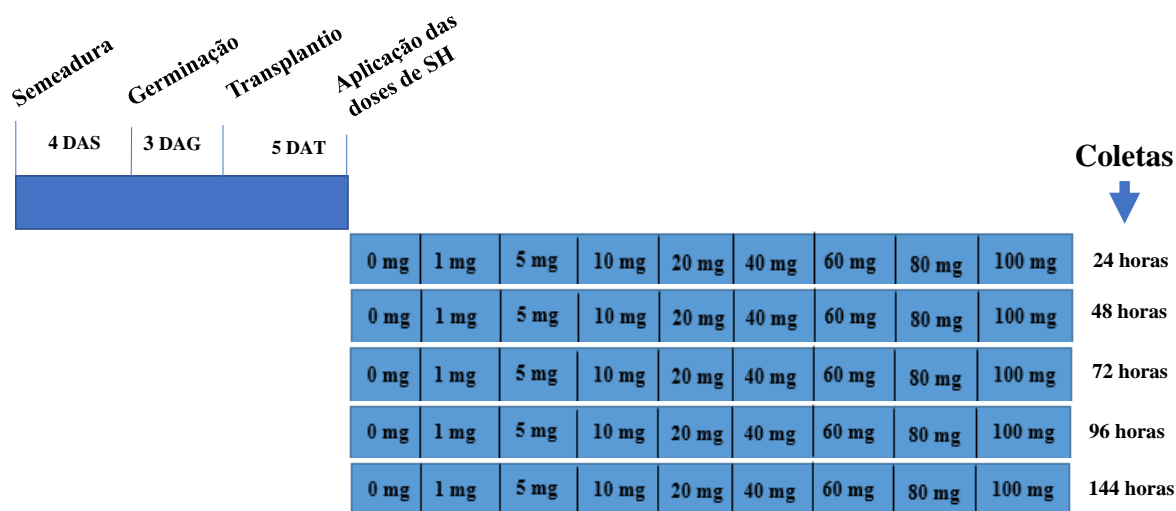


Figura 10. Esquema representativo da condução do ensaio experimental.

##### 4.4.5.1. Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a*

A fluorescência transiente da clorofila *a* foi medida em cinco momentos diferentes, utilizando-se um fluorômetro portátil (HandyPEA, Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). Os cliques utilizados para estas medições foram colocados no terço médio de folhas jovens completamente expandidas, no período da manhã (às 7:00 horas) durante os cinco dias após o início dos tratamentos, e as medições foram realizadas 20 minutos após a adaptação das folhas ao escuro. A emissão de fluorescência é induzida em uma área de quatro mm de diâmetro da folha pela exposição da amostra a um pulso de luz saturante numa intensidade de  $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sendo o intervalo entre os pulsos de 500ms. A partir da curva de emissão de fluorescência transiente obtida, as intensidades determinadas a 50  $\mu\text{s}$  (fluorescência inicial - F0), 100, 300 $\mu\text{s}$ , 2 (FJ) e 30 (FI) ms e FM (fluorescência máxima), foram utilizadas para o cálculo dos parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER & STRASSER, 1995)

(Tabela 6). E após as medições, realizava-se a coleta referente aos respectivos tempos de aplicação de SH.

**Tabela 6.** Principais parâmetros do Teste JIP (Extraída de Sousa, 2012; adaptada de Strasser et al., 2004 e Yusuf et al., 2010)

<b>Parâmetros de fluorescência calculados a partir dos dados primários obtidos</b>	
$F_V = F_M - F_0$	Fluorescência variável.
$F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo do FSII.
$V_t$	Fluorescência variável relativa em um tempo "t".
$V_j$	Fluorescência variável relativa em relação ao nível J.
$V_i$	Fluorescência variável relativa em relação ao nível I.
$M_0 = 4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$	Declive inicial aproximado (em $ms^{-1}$ ) da fluorescência transiente $V = f(t)$ .
$S_s = V_j/M_0$	Área total normalizada complementar correspondente apenas a fase OJ (reflete um único volume de eventos de redução de $Q_A$ ).
$S_m = (Area)/(F_M - F_0)$	Área total normalizada complementar acima da curva OJIP (reflete múltiplos eventos de redução da $Q_A$ ).
$N = S_m/S_s$	Número total de elétrons transferidos para a cadeia de transporte de elétrons entre o tempo de 0 et (necessário para atingir $F_M$ ).
<b>Atividade específica por centro de reação (RC)</b>	
$ABS/RC = M_0 (1/V_j) (1/\phi P_0)$	Medida do tamanho aparente do sistema antena ou o fluxo de absorção por RC.
$TR_0/RC = M_0 (1/V_j)$	Máxima taxa pela qual um éxciton é capturado pelo RC resultando em uma redução da plastoquinona ( $Q_A^-$ ).
$ET_0/RC = M_0 (1/V_j) \Psi_0$	Reoxidação da $Q_A^-$ via transporte de elétrons em um RC ativo.
$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	Razão de dissipação total de energia de excitação não capturada do total de RC, sendo a dissipação neste caso à perda de energia na forma de calor.
$RE_0/RC$	Redução do acceptor final de elétrons no lado do acceptor de elétrons do FSI por RC.
<b>Rendimentos energéticos ou taxas de fluxo</b>	
$\phi P_0 = TR_0/ABS = F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo fotoquímico.
$\phi E_0 = ET_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de $Q_A^-$ para o intersistema de aceptores de elétrons.
$\phi D_0 = 1 - \phi P_0 = (F_0/F_M)$	Rendimento quântico para dissipação de energia.
$\phi R_0 = RE_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de $Q_A^-$ para o acceptor final de elétrons do FSI.
<b>Eficiências</b>	
$\psi E_0 = ET_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron de $Q_A^-$ para o intersistema de aceptores de elétrons.
$\rho_0 = RE_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de $Q_A^-$ para os aceptores finais de elétrons do FSI.
$\delta R_0 = RE_0/ET_0$	Eficiência com que um elétron pode mover o intersistema de aceptores de elétrons reduzidos no intersistema para o acceptor final de elétrons do FSI.
<b>Índices de desempenho</b>	



---

$PI_{ABS} = (RC/ABS) B (\varphi_{P0}/10S\varphi_{P0}) 0Si (\Psi_0/10\Psi_0) = (RC/ABS) B (TR_0/DI_0) \times (ET_0/1TSET_0)$	<p>Índice de desempenho fotossintético (conservação de energia a partir do éxciton para a redução dos aceptores de elétrons do intersistema).</p>
$PI_{total} = PI_{ABS} BS (\delta_0/1B\delta_0)$	<p>Índice de desempenho fotossintético total (conservação de energia a partir de éxciton para a redução de aceptores finais do FSI).</p>

---

#### 4.4.5.2. Análise dos parâmetros da morfologia radicular

No momento da coleta, as raízes foram lavadas e armazenadas em tubo Falcon de 50 mL contendo álcool 50% e conservadas em geladeira para posterior digitalização e quantificação através de um scanner *Epson Expression 10000XL*. Segundo Tavares (2014), individualmente trabalhadas, analisadas e quantificadas em três diferentes características nas classes superfina, fina e grossa: comprimento total da raiz (mm), número total de bifurcações, área total (mm<sup>2</sup>). Utilizando o software WinRHIZO Arabidopsis, 2012b (Régent Instruments, Quebec, Canadá Inc.). Foi adotado o método não estatístico Régent para realizar medições da morfologia radicular em WinRHIZO. Os limites das imagens foram definidos e importados para o software WinRHIZO para análise de caracteres de raiz e quantificação, feito isto, os dados passaram a ser analisados através do XLRhizo (Régent Instruments, Quebec, Canadá Inc). Cujos macros adicionam análise e comandos gráficos de raiz aos comandos padrão do Excel (Microsoft Corp.) para análise de arquivos de dados produzido pelo winRHIZO. Já para a determinação da produção de matéria fresca e seca, lavaram-se as raízes para total remoção do substrato e foram pesados tanto a parte aérea como a raiz, separada uma parte da outra, e o material vegetal foi destinado ao forno Pasteur com circulação forçada de ar (50±5°C). Assim sendo, pesados em balança analítica para definir o peso seco.

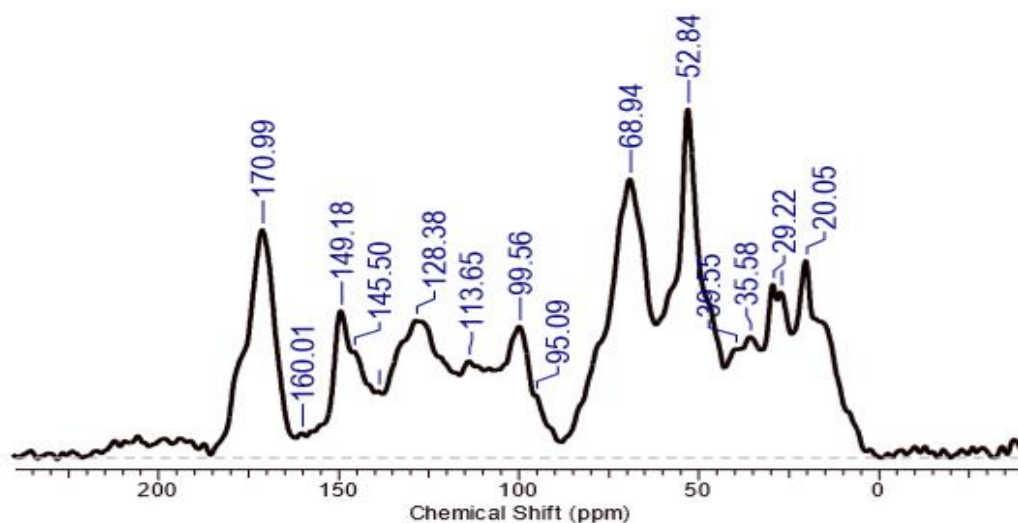
#### 4.4.5.3. Análises estatísticas

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com nove doses de SH, cinco horários diferentes de coleta e cinco repetições (9x5x5), totalizando 225 unidades experimentais. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias das variáveis de fluorescência transiente da clorofila *a*, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e os dados de morfologia da raiz foram analisados por meio de regressão linear, realizada através do Programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.5.1. Características estruturais da substância húmica íntegra isolada de vermicomposto mediante $^{13}\text{C}$ NMR-CP/MAS

O resultado da CP-MAS  $^{13}\text{C}$  RMN da SH é apresentado na Figura 12. A assinatura espectral indica diferenças quanto a intensidade dos picos, demonstrando maior intensidade presente em torno de 52 ppm ( $\text{C}_{\text{Alquíil-O, N}}$ ), 68 ppm ( $\text{C}_{\text{Alquíil-O}}$ ) e 170 ppm ( $\text{C}_{\text{COOH-(H, R)}}$ ). É notório a presença de picos menos intensos em algumas outras regiões, aproximadamente em 99 ppm, 128 ppm e 149 ppm. Segundo Kumar e colaboradores (2013), a região entre 60 e 110 ppm correspondem a polissacarídeos e proteínas. Uma observação similar feita por estes autores, referente às cadeias polissacarídicas é relatada no caso da presença de tecidos lenhosos vegetais (Vane et al., 2001). Uma leve intensidade entre os picos de 114 ppm e 122 ppm corresponde a carbonos aromáticos (Kumar et al., 2013). Ainda segundo estes autores supõem-se que os polissacarídeos de cadeia longa foram facilmente digeridos com a ajuda de colônias microbianas presentes no intestino das minhocas, resultando na alteração da estrutura da lignina em novos polissacarídeos e humina. Os polissacarídeos nos materiais vermicompostos finais foram transformados em C. alifático rico. Logo, a partir do espectro  $^{13}\text{C}$  NMR, pode-se dizer que o conteúdo de C alifático é maior que o conteúdo de C aromático, e resultados semelhantes foram relatados (Carrasquero-Durán, 2009; Jackson & Line, 1997; Gerasimowicz & Byler, 1985). E de acordo com Wooten (1995), os picos entre 110 e 160 ppm correspondem a carbonos aromáticos e fenólicos, especialmente aos carbonos aromáticos e olefínicos.



**Figura 11.** Espectro  $^{13}\text{C}$  NMR CP MAS de substância húmica na íntegra (ácido húmico + ácido fúlvico) obtida de vermicomposto.

A distribuição de carbono da amostra de cada região calculada com o espectro da SH é apresentada na Tabela 7, indicando uma grande variabilidade de estruturas, com predomínio de carbono alifático. Demonstrando maiores percentuais em estruturas alifáticas do tipo  $\text{C}_{\text{Alquíil-(H,R)}}$  (21,43%),  $\text{C}_{\text{Aromático-(O,N)}}$  (17,34%) e  $\text{C}_{\text{Alquíil-O}}$  (18,36%). Segundo García (2013), essa predominância de estruturas alifáticas pode indicar a presença de substâncias em estado inicial de humificação e estar atrelada à presença de material compostado com pouca maturidade (Spaccini e Piccolo, 2007).

**Tabela 7.** Distribuição relativa de carbono (% da área total) em espectros de  $^{13}\text{C}$  NMR de substâncias húmicas (SH) na sua forma íntegra obtida de Vermicomposto.

Região (ppm)	Tipo de Carbono	SH-Vc (%)	Aromaticidade (%)	Alifaticidade (%)	Índice de Hidrofobicidade (%)
0 - 46	$\text{C}_{\text{Alquil-(H,R)}}$	21,43	21,42	78,58	0,55
46 - 59	$\text{C}_{\text{Alquil-(O,N)}}$	17,34			
59 - 91	$\text{C}_{\text{Alquil-O}}$	18,36			
91 - 110	$\text{C}_{\text{Alquil-di-O}}$	8,16			
110 - 142	$\text{C}_{\text{Aromático-(H,R)}}$	14,28			
142 - 156	$\text{C}_{\text{Aromático-(O,N)}}$	7,14			
156 - 186	$\text{C}_{\text{COO-(H,R)}}$	11,22			
186 - 230	$\text{C}_{\text{C=O}}$	2,04			

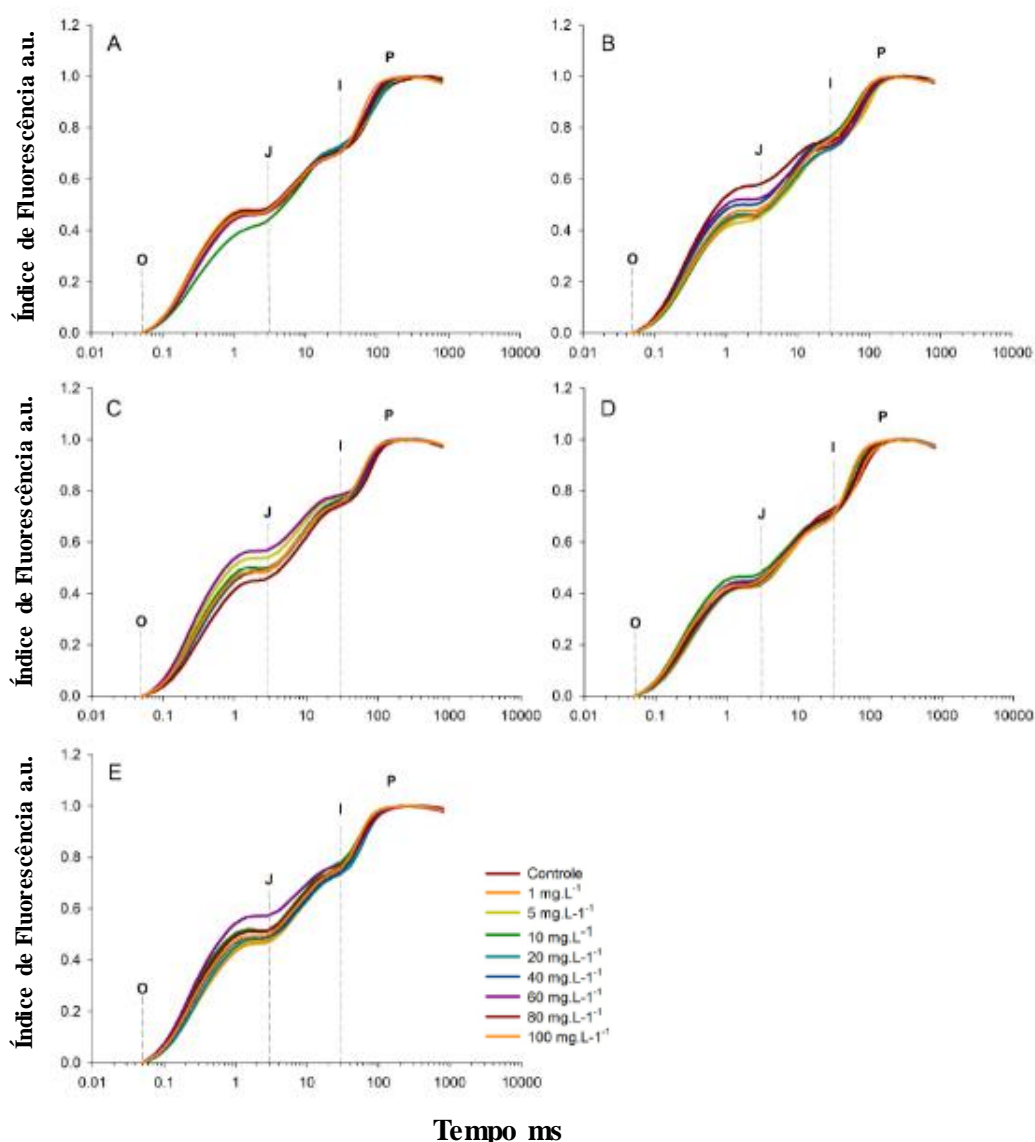
Extrator Utilizado: KOH

#### 4.5.2. Avaliação da cinética de emissão da fluorescência transiente da clorofila *a*

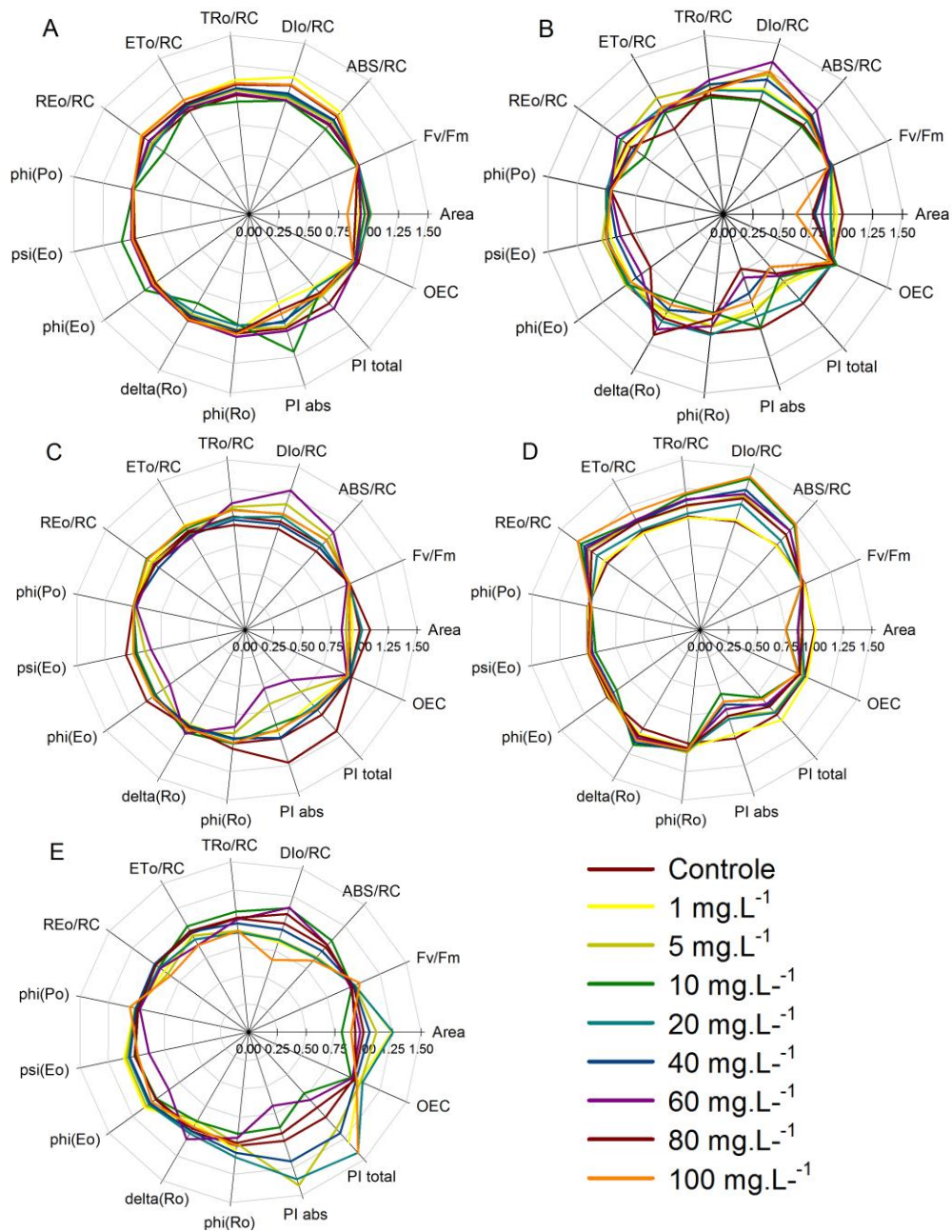
A fluorescência da clorofila, além de não-destrutiva, é altamente sensível e de fácil manuseio, permitindo a obtenção de informações qualitativas e quantitativas sobre a condição fisiológica do aparato fotossintético (PAPAGEORGIOU; GOVINDJEE, 2011). Foram observadas modificações significativas nos parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP (Figuras 12 e 13) derivados da fluorescência transiente da clorofila *a* (STRASSER & STRASSER, 1995).

Às 24 horas após a aplicação de SH-Vc, houve um incremento significativo no índice de desempenho fotossintético ( $\text{PI}_{\text{ABS}}$ ) com a dose de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  (SH) (Figura 12 e 13). Enquanto após 48 horas, as doses de  $60$  e  $80 \text{ mg L}^{-1}$  (SH) apresentaram maiores alterações, com aumento da intensidade de fluorescência entre os passos O-J na curva OJIP quando comparado ao controle na concentração de  $80 \text{ mg}$  (Figura 12), havendo uma maior relação com a redução fotoquímica do principal acceptor do FSII (Quinona A -  $\text{Q}_A$ ), acarretando no aumento da perda de energia na forma de calor ( $\text{DI}_0/\text{RC}$ ), segundo Schansker e colaboradores (2005), é a fase em que a cinética é fortemente dependente da densidade do fluxo de luz. Devido ao fato das formas de emissão de energia serem competitivas na fotossíntese, observa-se no Teste JIP, no mesmo horário e com estas doses, como respostas fisiológicas da planta, apresenta um menor desempenho fotossintético ( $\text{PI}_{\text{TOTAL}}$  e  $\text{PI}_{\text{ABS}}$ ) e maiores alterações na dissipação de energia em forma de calor ( $\text{DI}_0/\text{RC}$ ) e tamanho aparente do sistema complexo antena ( $\text{ABS}/\text{RC}$ ). Como o tratamento com  $80 \text{ mg}$ , propiciou um aumento da intensidade de fluorescência visto na curva OJIP (Figura 12), isto influenciou para uma redução no desempenho fotoquímico, aumentando assim, o tamanho do sistema do complexo antena e elevando a perda de energia na forma de calor. Entende-se por ser um mecanismo compensatório desenvolvido pelo vegetal, pois pode ter ocorrido uma aglomeração das substâncias húmicas na parede celular das raízes, obstruindo o transporte de água e nutrientes indicando um efeito inibitório no crescimento das plantas, comprovado às 72 h de aplicação que a dose de  $80 \text{ mg}$  reduziu e a de  $60 \text{ mg}$  se manteve maior quando comparada ao controle entre os passos O-J (Figura 12 C). Contudo pelo Teste JIP, às 96 h após aplicação, houve diminuição no índice  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  com todas as concentrações, exceto as do controle e de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  (SH), ou seja, a substância húmica possivelmente atuou como um

fator de estresse na planta. Em uma das literaturas encontradas, demonstrou que os índices de desempenho fotossintético são considerados mais sensíveis à detecção de qualquer nível de estresse nas plantas do que o próprio rendimento quântico máximo do PSII (Oukarroum et al., 2007). Decorrente da relação destes índices com a eficiência de absorção, captura e transferência de energia de excitação pelo fotossistema II que propicia uma visão mais ampla do grau de efeito do ambiente estressante (GONÇALVES, 2005). De acordo com Thach e colaboradores (2007), essa diminuição nos índices de desempenho indica perda de eficiência fotoquímica pelas plantas. Contudo, esse estresse não foi intenso o suficiente para causar injúrias na planta. Contrariamente, ficou evidente o aumento do desempenho fotossintético às 144 h após o tratamento (Figura 12), presume-se que teve como finalidade de acelerar a atividade metabólica para ativar algum mecanismo de aclimação e de proteção da planta.



**Figura 12.** Intensidade da fluorescência transiente da clorofila *a* obtida de *Oryza sativa* L. cv. BRS Esmeralda submetidas a diferentes concentrações e intervalos de tempos de aplicação de substâncias húmicas, aos 13 DAS. (A) 24 horas; (B) 48 horas; (C) 72 horas; (D) 96 horas; (E) 144 horas.



**Figura 13.** Parâmetros do Teste JIP obtidos de *Oryza sativa* L. cv. BRS Esmeralda submetidas a concentrações de SH e intervalos de tempos de aplicação de substâncias húmicas. Expressos em relação ao tratamento controle (valor transformado para 1), aos 13 DAS.

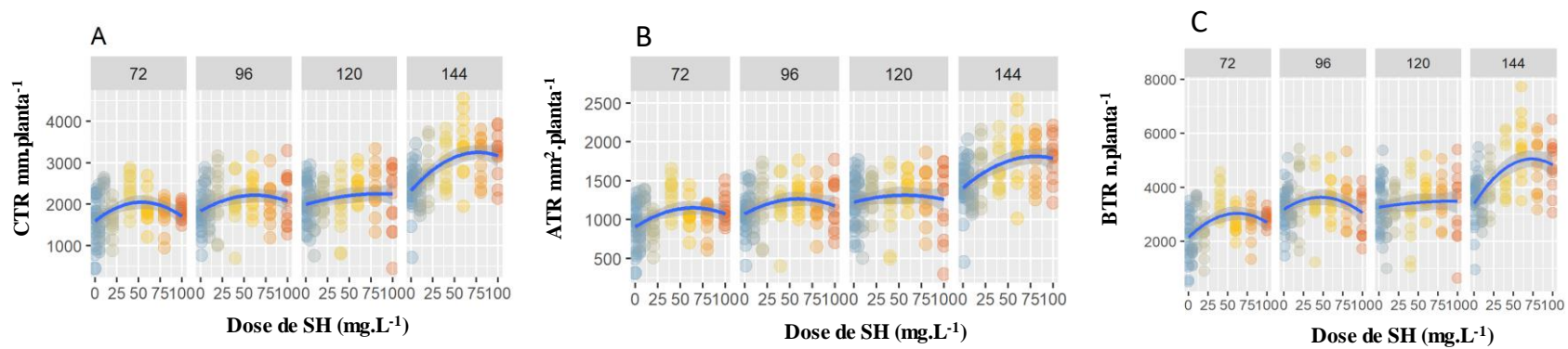
### 4.5.3 Morfologia radicular

A utilização da solução nutritiva incrementada com as concentrações de SH extraídas a partir de vermicomposto favoreceu o crescimento tanto da área como do comprimento do sistema radicular (Figuras 14 e 15). O efeito promovido foi dependente da concentração crescente e do maior tempo de submissão aos tratamentos. Tavares (2014) constatou que o comprimento total, a área total de superfície e o número de raízes laterais, nas classes de diâmetro superfino, fino e médio, demonstraram um padrão de dose-resposta quadrática ao ácido húmico em momentos distintos de avaliação. Neste estudo as concentrações de 40 e 60 mg L<sup>-1</sup> de SH às 96 horas de aplicação (Figura 14), proporcionaram um maior acréscimo nos parâmetros comprimento, área total e número de bifurcações, mesmo em relação a máxima concentração utilizada (100 mg L<sup>-1</sup>), foi observado estímulo no crescimento radicular em relação às plantas crescidas sem adição de SH.

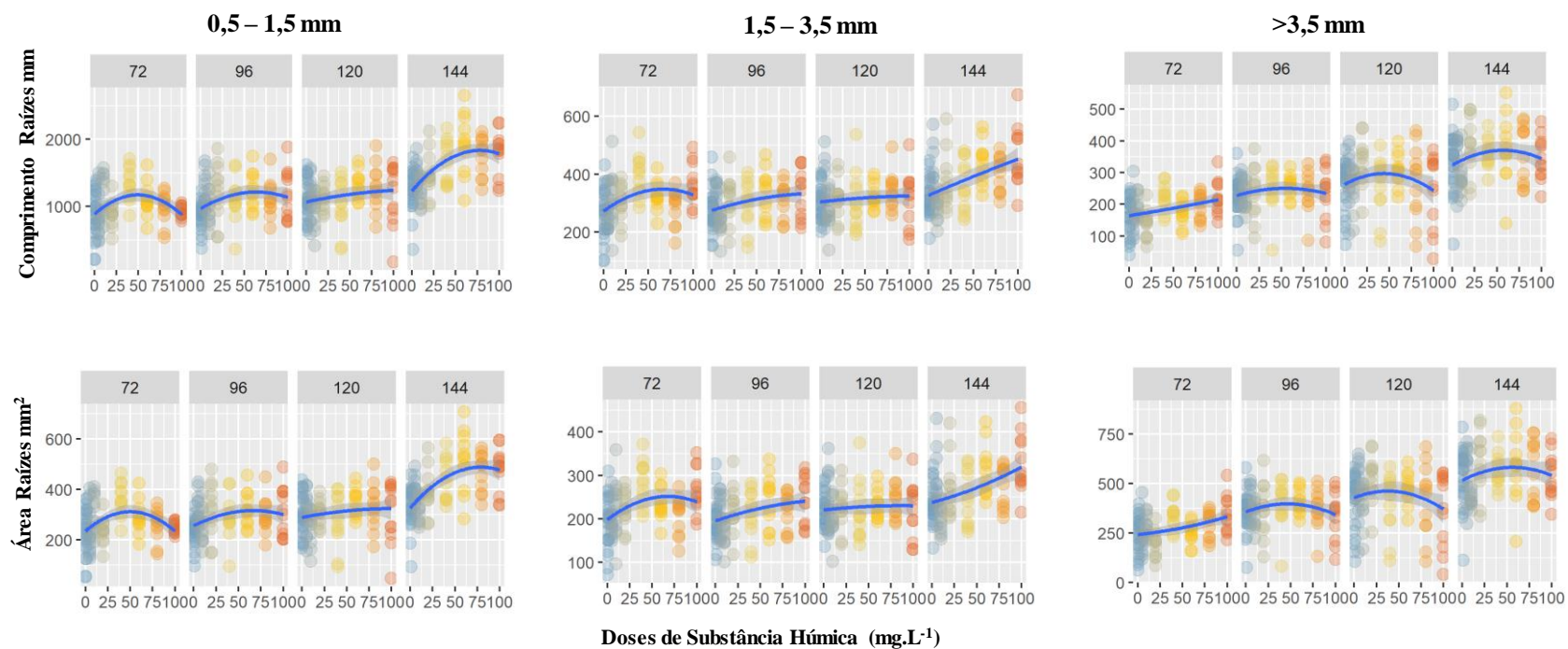
As variáveis área superficial e número de bifurcações (Figura 14) estão intimamente correlacionadas, pois demonstram a existência de raízes finas (Figura 15) que são fisiologicamente mais ativas por propiciarem maior absorção de água e, conseqüentemente, de íons (Rodda et al., 2006). Este fato é justificado por Vaughan et al. (1985) que relaciona o aumento da absorção de nutrientes pelas plantas devido à influência das SH na permeabilidade da membrana celular confirmado por Tavares et al., 2017; Zanin et al. (2018) por meio dos aumentos de transportadores de nitrogênio e enxofre (Jannin et al., 2012). Comprovado o aumento de raízes por Canellas et al. (2002), ao tratar plântulas de milho e Tavares et al. (2017) em plântula de arroz com concentrações crescentes de ácido húmico em que tanto o alongamento como a multiplicação de raízes secundárias foram estimuladas, resultando no aumento da área superficial e do comprimento total radicular.

Sze (1985) afirmou que a provável presença de substâncias indutoras de crescimento radicular do tipo auxinas no humato de vermicomposto influencia positivamente a ramificação das raízes, o desenvolvimento de raízes laterais, induzindo a atividade de hidrólise de ATP da membrana plasmática (Zandonadi, 2007), acarretando uma maior acidificação do apoplasto e energização dos transportadores de íons. É possível inferir que estas substâncias demonstram efeitos positivos sobre o metabolismo bioquímico das plantas estimulando o alongamento radicular.

Os resultados obtidos estão de acordo com alguns trabalhos citados na literatura que comprovam o maior crescimento das raízes com menor raio médio em presença de substâncias húmicas, aumentando a eficiência das raízes de azevém e inclui o fato da área superficial ser consequência do raio médio e da biomassa fresca produzida, em que ambas são estimuladas pela dose utilizada (SILVA et al., 2000).



**Figura 14.** Dose -resposta das variáveis radiculares de plantas de arroz cv. BRS Esmeralda sob doses crescentes de substância húmica (AH+AF), isolada de vermicomposto a cada 24h, a partir das 72 até 144h. (A) Comprimento Total da Raiz; (B) Área Total da Raiz; (C) Bifurcação Total da Raiz.



**Figura 15.** Dose vs. resposta das variáveis radiculares mensuradas comprimento e área dentro das classes de raízes superfina ( $0,5 < d < 1,5$ ), fina ( $1,5 < d < 3,5$ ) e grossa ( $d > 3,5$ ) em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda sob concentrações crescentes de substância húmica, avaliadas às 72, 96, 120 e 144 horas.



De acordo com García e colaboradores (2019), já é reconhecido na literatura a capacidade que as SHs possuem para estimular o crescimento, a morfologia e arquitetura radicular das plantas e estabelecido que diversas espécies de plantas, inclusive o arroz (*Oryza sativa* L.) (García et al., 2016; Tavares et al., 2017). Ainda segundo estes autores, os efeitos diretos que as SHs exercem nas plantas ocorrem por intermédio da regulação do seu crescimento e desenvolvimento, especificamente e em maior extensão no crescimento radicular.

## 4.6 CONCLUSÕES

A SH extraída foi caracterizada apresentando 21,43 % de  $C_{\text{Alquil-(H,R)}}$ , 17,34% de  $C_{\text{Alquil-O,N}}$ , 18,36%  $C_{\text{Alquil-O}}$ , 8,16%  $C_{\text{Alquil-di-O}}$ , 14,28%  $C_{\text{Aromático-(H,R)}}$ , 7,14%  $C_{\text{Aromático-(O,N)}}$ , 11,22%  $C_{\text{COO-(H,R)}}$  e 2,04% de  $C_{\text{C=O}}$  com predomínio das estruturas alifáticas (21,43 % de  $C_{\text{Alquil-(H,R)}}$ , 17,34% de  $C_{\text{Alquil-O,N}}$ , 18,36%  $C_{\text{Alquil-O}}$ ), indicando assim, 78,58% de alifaticidade, 21,42% de aromaticidade e 0,55% do índice de hidrofobicidade. Com isso há presença de substâncias em estado inicial de humificação.

As plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) cv. BRS Esmeralda tratadas com a SH, apresentaram inicialmente um declínio na eficiência fotossintética, que por sua vez, desempenhou um papel de sinalização, em que posteriormente acarretou no aumento do desempenho fotossintético com as concentrações de 40 e 60 mg L<sup>-1</sup> às 144 horas após aplicação, havendo assim, um incremento no crescimento da planta.

Houve alterações diferenciadas nas características morfológicas do sistema radicular por efeito da aplicação da substância húmica (AH+AF), especialmente na dose de 60 mg SH L<sup>-1</sup>, doses maiores estimulou antes seguido das doses menores aumentando o comprimento, área total, número de pontas e bifurcações.

## **5. CAPÍTULO 3**

### **INTERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA HÚMICA E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES SOBRE O CRESCIMENTO DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) SOB ESTRESSE SALINO**

## 5.1 RESUMO

O estabelecimento de uma agricultura sustentável, que conserve o meio ambiente e proporcione segurança alimentar futuramente, é um fator essencial para o desenvolvimento da humanidade ante as mudanças climáticas e o declínio das reservas energéticas não renováveis. Diante das previsões de crescimento populacional mundial, alcançando nove bilhões de habitantes em 2050, existe o desafio de criar métodos eficientes para aumentar a produção de alimentos e energia renovável sem, entretanto, esgotar os recursos renováveis. A biotecnologia baseada em bioestimulantes a base de microrganismos que são capazes de estabelecer uma associação simbiótica com a planta ocupa um papel fundamental na busca de soluções para atenuar os problemas, tanto atuais como futuros, resultantes do estilo de vida adotado pelo homem. Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência da interação da substância húmica em plantas de arroz micorrizadas submetidas ao estresse salino, sobre os parâmetros morfológicos da parte aérea e do sistema radicular, acúmulo de nutrientes na parte aérea e o percentual de colonização das raízes. As plantas foram crescidas em casa de vegetação, e cinco dias após a germinação foram transplantadas, onde um grupo de plantas recebeu o inóculo do seu respectivo fungo micorrízico arbuscular (*Acaulospora mellea*, *Glomus formos anum*, *Rhizoglomus clarum* e *Glomus* sp.) e foram tratadas com ou sem substância húmica, com e sem NaCl; representando um total de 20 tratamentos. Os resultados mostram que a aplicação de substâncias húmicas e a inoculação dos fungos: *Acaulospora mellea*, *Glomus formos anum*, *Rhizoglomus clarum* e *Glomus* sp. estimularam significativamente parâmetros morfológicos como o conteúdo de biomassa e o crescimento das raízes em relação aos tratamentos não inoculados. O conteúdo de fósforo foliar foi consideravelmente incrementado quando as plantas estavam expostas ao estresse salino. Observou-se um maior acúmulo de sódio na parte aérea das plantas que não receberam a aplicação de SH, em contrapartida, houve menor acúmulo do conteúdo de potássio em condições de salinidade. Em relação à colonização micorrízica foi obtido um percentual máximo de 20%, relativamente baixa, segundo a metodologia adotada e também devido ao tempo de condução experimental que foi curto para se obter um percentual maior de colonização.

**Palavras-chave:** Ácido húmico. Simbioses. Bioatividade. Salinidade.

## 5.2 ABSTRACT

The establishment of sustainable agriculture, which conserves the environment and provides food security in the future, is an essential factor for the development of humanity in the face of climate change and the decline of non-renewable energy reserves. In view of world population growth forecasts, reaching nine billion inhabitants in 2050, there is a challenge to create efficient methods to increase the production of food and renewable energy without, however, exhausting renewable resources. Biotechnology based on biostimulants based on microorganisms that are capable of establishing a symbiotic association with the plant plays a fundamental role in the search for solutions to mitigate the problems, both current and future, resulting from the lifestyle adopted by man. In this context, the objective of this study was to evaluate the influence of humic substance interaction in mycorrhizal rice plants subjected to salt stress, on the morphological parameters of the aerial part and the root system, accumulation of nutrients in the aerial part and the percentage of colonization of the roots. The plants were grown in a greenhouse, and five days after germination they were transplanted, where a group of plants received the inoculum of their respective arbuscular mycorrhizal fungus (*Acaulospora mellea*, *Glomus formosanum*, *Rhizoglyphus clarum* and *Glomus* sp.) And were treated with or without humic substance, with and without NaCl; representing a total of 20 treatments. The results show that the application of humic substances and the inoculation of fungi: *Acaulospora mellea*, *Glomus formosanum*, *Rhizoglyphus clarum* and *Glomus* sp. significantly stimulated morphological parameters such as biomass content and root growth in relation to non-inoculated treatments. The leaf phosphorus content was considerably increased when the plants were exposed to salt stress. There was a greater accumulation of sodium in the aerial part of the plants that did not receive the application of SH, in contrast, there was less accumulation of the potassium content under salinity conditions. Regarding mycorrhizal colonization, a maximum percentage of 20% was obtained, relatively low, according to the methodology adopted and also due to the experimental conduction time that was short to obtain a higher percentage of colonization.

**Keywords:** Humic acid. Symbiosis. Bioactivity. Salinity.

### 5.3 INTRODUÇÃO

Diante de previsões estatísticas, há uma grande possibilidade da humanidade vivenciar, futuramente, a influência de três crises anunciadas: a diminuição das reservas de petróleo, a escassez de água potável e a falta de alimentos para uma extensa parte da população (Carrer et al., 2010).

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), estima-se que há no mundo mais de 1,2 bilhão de pessoas sem acesso à água potável, representando cerca de 20% da população mundial (Unesco, 2007). A agricultura é responsável por cerca de 70% do consumo de água do planeta (Aquastat-FAO, 2010), e o uso descontrolado de pesticidas e fertilizantes contribui para a contaminação da água de lençóis freáticos e mananciais subterrâneos (Carrer et al., 2010).

Na produção de alimentos, a biotecnologia pode fornecer ferramentas que proporcionem aumento da produção agrícola através da aplicação de bioestimulantes artesanais, produzindo compostos orgânicos que existem naturalmente podendo ser utilizados como biofertilizantes (Rodda et al., 2006) e do uso de microrganismos que vivem simbioticamente com a maioria das plantas, onde estão inclusos os fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

Os FMA são organismos do solo que vivem simbioticamente com a maioria das plantas (Barrer, 2009). Eles proporcionam benefícios, dando-lhes vantagens sobre plantas não micorrizadas, como facilitar a planta a receber nutrientes de baixa disponibilidade ou baixa mobilidade no solo, evitando a ação de microrganismos patogênicos na raiz, aumentando a tolerância da planta a condições de estresse abiótico no solo (Smith e Read, 2008), além de aumentar a decomposição e a ciclagem de carbono e nutrientes, pelo que desempenham uma função relevante no funcionamento e sustentabilidade dos agroecossistemas (Truber, 2013; Silva, 2016).

A adição de compostos orgânicos, independentes da fonte, como celulose, ou compostagens em substratos não esterilizados ou em solos, acarreta em estímulos na quantidade de hifas intra e extraradiculares (Gryndler et al., 2009). Em condições axênicas, a aplicação de ácido húmico estimulou a produção de esporos de *Glomus proliferum* e o crescimento de *Lunularia cruciata* (Nobre et al., 2013), assim como a colonização micorrízica de *Glomus clarum* em raízes de trevo e manjerição (Lima, 2008).

A influência das substâncias húmicas no crescimento vegetal e no solo pode ocorrer por diversas formas (Nardi e Pizzeghello, 2002), seja com um efeito similar ao auxínico ou relacionado com suas características estruturais. As substâncias húmicas ao ser o maior componente da matéria orgânica do solo podem estabelecer um maior contato com as hifas dos FMAs (Gryndler et al., 2009), o que poderia estimular a micorrização além do crescimento vegetal por um aumento da atividade enzimática e do metabolismo do nitrogênio (Lima, 2008).

Portanto, o presente capítulo teve como objetivo avaliar a influência da interação da substância húmica, na sua forma íntegra (AH+AF), e de quatro espécies de fungos micorrízicos: *Acaulospora mellea*, *Glomus formosanum*, *Rhizoglomus clarum* e *Glomus* sp, no crescimento, acúmulo de nutrientes, na morfologia do sistema radicular e percentual de colonização em plantas de arroz submetidas ao estresse salino.

## 5.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.4.1 Localização e caracterização do experimento

O experimento foi conduzido na Embrapa Agrobiologia; localizada em Seropédica-RJ. As atividades ocorreram no Laboratório de Micorrizas; Laboratório de Química Agrícola; Laboratório de Química Biológica do Solo e no Laboratório de Estudos das Relações Solo-Planta. A espécie utilizada foi o arroz (*Oryza sativa* L.) da variedade BRS Esmeralda.



**Figura 16.** Ensaio experimental na casa de vegetação da EMBRAPA Agrobiologia.

### 5.4.2. Cultivar de arroz e microrganismos

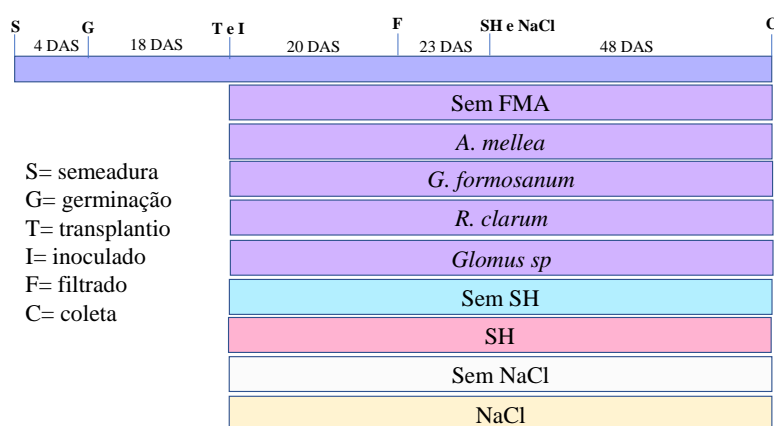
As sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) da variedade BRS Esmeralda foram fornecidas pela EMBRAPA-Agrobiologia; Seropédica-RJ. A variedade selecionada tem como principal característica a sua resistência ao déficit hídrico; além de ser uma cultivar de terras altas.

As espécies de FMA utilizadas foram *Acaulospora mellea* (Spain & N.C. Schenck) – (CNPAB 050); *Glomus formosanum* (C. G. Wu & Z. C. Chen) – (CNPAB 020); *Rhizoglyphus clarum* (T. H. Nicolson & N. C. Schenck) – (CNPAB 005) e *Glomus* sp. – (CNPAB 056). Provenientes da Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia (COFMEA). A mesma foi aplicada na forma de solo-inóculo com uma densidade de 120 esporos/g de solo.

### 5.4.3. Cultivo das plantas de arroz

As sementes de arroz foram desinfestadas previamente com hipoclorito de sódio (2%) por 10 minutos e posteriormente lavadas com água destilada. Em seguida; as sementes foram transferidas para potes com gaze que continham somente água destilada. Cinco dias após a germinação das sementes; as plântulas receberam uma solução de Hoagland (Hoagland e Arnon;1950) modificada. A cada três dias esta solução foi trocada. Doze dias após a germinação; as plantas foram transplantadas para potes de 0,7 L; onde continha areia previamente lavada e esterilizada em

autoclave e a solução nutritiva de Hoagland modificada para que não interferisse na atividade dos Fungos Micorrízicos Arbusculares que foram inoculados no mesmo dia do transplântio. Nos tratamentos com inoculação adicionou-se 1g de inóculo de cada FMA contendo aproximadamente 120 esporos na cova central feita na areia contida em cada vaso entre as quatro plântulas de cada vaso. Dois dias após o transplântio foi aplicado o filtrado (Figura 17) com a troca da solução nutritiva em todos os tratamentos. Três dias após foram adicionados os tratamentos com as doses de substância húmica (selecionada no capítulo II): 40 mg L<sup>-1</sup> de SH; e cloreto de sódio (no capítulo I): 200 mM de NaCl. A cada três dias foram realizadas a troca de solução com reaplicação dos tratamentos referidos anteriormente. O experimento foi concluído aos 44 dias após a germinação (DAG).



**Figura 17.** Esquema representativo da condução experimental.

#### - Preparo do filtrado:

O filtrado é utilizado devido aos Fungos Micorrízicos Arbusculares apresentarem uma “biota acompanhante”; e para que não haja uma subestimação ou superestimação da influência dos FMAs é necessário que todos os tratamentos conttenham esta biota; filtrando os fungos.

Foram separados 9;0 g de cada inoculante; totalizando 36 gramas. Utilizou-se um liquidificador com 1 litro de água destilada sendo adicionados os 36 g dos inoculantes; em seguida; houve a decantação da parte sólida da mistura e foi passado na peneira de 0;053 mm em outro recipiente; esperou-se a decantação novamente e transferido o líquido para a proveta; a partir daí o material foi filtrado por duas vezes e armazenado em frasco âmbar.

#### 5.4.4. Desenho experimental

O delineamento experimental foi de blocos casualizados; em esquema fatorial 5x2x2; com quinze repetições por tratamento. O primeiro fator foram as quatro espécies de FMA e um controle; o segundo foi com e sem a substância húmica; e o terceiro foi com e sem o estresse salino.

#### 5.4.5. Avaliação da massa fresca e seca da parte aérea e raiz

Passados 44 DAG, procederam-se a coleta do experimento. A parte aérea foi pesada a fim de obter a massa fresca (MFPA) do material e armazenada em sacos de papel para serem secas em



estufa de circulação forçada de ar (60°C) por 72 horas até atingir peso constante. Posteriormente; avaliou-se a massa seca da parte aérea (MSPA) utilizando balança analítica.

As raízes foram removidas do substrato e lavadas em água corrente. Foram pesadas para obter a massa fresca (MFR) e armazenadas em tubo Falcon de 50 mL contendo álcool 50% e conservadas sob refrigeração; para posterior digitalização e quantificação através de um scanner *Epson Expression 10000XL*; o mesmo utilizado nos experimentos anteriores.

Após a digitalização das raízes, aproximadamente, 1g de raízes finas foi retirada para avaliação da colonização micorrízica. O restante do sistema radicular foi colocado em sacos de papel e em estufa; da mesma forma que a parte aérea; para a determinação de massa seca radicular (MSR).

#### **5.4.6. Determinação de fósforo nas pontas das folhas**

Fungos Micorrízicos promovem aumentos de absorção e teores de nutrientes na parte aérea, principalmente de fósforo, sendo importante a análise deste nutriente para avaliar o funcionamento da simbiose. Entretanto, as metodologias de análises dos teores de fósforo nos tecidos vegetais envolvem grandes quantidades de material vegetal seco, exigindo no caso de plantas pequenas a colheita total da mesma para a realização de tal análise. Esta metodologia utiliza uma amostra diminuta do tecido foliar analisando o teor de P nas folhas, possibilitando diversas outras análises.

A metodologia de análise do P é a descrita por Murphy e Riley (1962) e tradicionalmente utilizada para determinação de baixas concentrações de P em águas naturais. A adaptação desta metodologia para análises de tecido foliar após a combustão em mufla foi feita por Aziz e Habte (1987) para discos de folhas e por Habte e colaboradores (1987); para folíolos. Ambas as metodologias foram agrupadas no trabalho de Habte (1992).

#### **5.4.7. Avaliação da colonização micorrízica**

O método mais frequentemente utilizado para avaliar a colonização de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em raízes é o da interseção em placa quadriculada (Gridline Intesect Method); adaptado por Giovannetti e Mosse (1980) a partir do método descrito por Newman (1966) para estimativa de comprimento de raízes. Este método pode estimar tanto a proporção de raízes colonizadas; como o comprimento total de raízes colonizadas; sendo a primeira avaliação mais comumente apresentada nos trabalhos científicos. Neste método a amostra de raízes é disposta em uma placa de Petri com um quadriculado de ½ polegada desenhado e as raízes são observadas em microscópio estereoscópico (Lupa).

As raízes são clarificadas e com as estruturas fúngicas coloridas são observadas sob microscópio em pontos que cruzam linhas de referência (pontos de interseção). Neste ponto são avaliadas quanto à presença ou ausência de estruturas de FMAs que indicam colonização micorrízica das raízes.

#### **5.4.8. Determinação de macronutrientes**

Realizaram-se análises referentes ao estado nutricional das plantas. Para tal finalidade; as amostras da parte aérea; que haviam sido colocadas na estufa a 70°C para a obtenção da massa seca; foram picotadas em frações muito pequenas e realizada uma solubilização (digestão) nitro-

perclórica para a determinação de Na e K. As determinações analíticas foram realizadas por fotometria de chama (Na e K).

#### **5.4.9. Avaliação da morfologia e desenvolvimento radicular**

A avaliação do desenvolvimento do sistema radicular das plantas mediante os diferentes parâmetros foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Tavares (2014). Todas as repetições de cada tratamento foram destinadas para esta finalidade; cujas raízes foram previamente lavadas com água destilada para total remoção do substrato em que foram cultivadas, em seguida, armazenadas em tubo Falcon de 50 mL contendo álcool 50% e conservadas sob refrigeração para posterior análise. O sistema radicular de cada planta de arroz foi uniformemente distribuído em uma camada de água em uma bandeja transparente de acrílico e a digitalização realizada com uma resolução de 600 dpi com um sistema de digitalização *Epson Expression 10000XL*. Imagens das raízes foram convertidas para um formato em tons de cinza de oito bits.

Individualmente trabalhadas, analisadas e quantificadas um total de 18 características diferentes de raízes: comprimento (mm); área projetada (mm<sup>2</sup>); área superficial (mm<sup>2</sup>); diâmetro médio (mm); volume (mm<sup>3</sup>); número de pontas; número de bifurcações de raiz. E todas estas características mensuradas dentro das três classes de raízes: superfino ( $0,5 < d < 1,5$  milímetros); fino ( $1,5 < d < 3,5$  milímetros) e grossas ( $d > 3,5$  milímetros). Com o uso do software WinRHIZO *Arabidopsis, 2012b* (Régent Instruments; Quebec; Canadá Inc.). Foi utilizado o método não estatístico Regent para realizar medições da morfologia radicular em WinRHIZO. Os limites das imagens foram definidos e então importados para o software WinRHIZO para análise de caracteres de raiz e quantificação.

Posteriormente, os dados foram analisados através do XLRhizo (Régent Instruments; Quebec; Canadá Inc.). Esses macros adicionam análise e comandos gráficos de raiz aos comandos padrão do Excel (*Microsoft Corp.*) para análise de arquivos de dados produzidos pelo WinRHIZO.

#### **5.4.10. Análises estatísticas**

O delineamento experimental adotado foi blocos casualizados; em esquema fatorial triplo (5x2x2) e 15 repetições; contendo quatro plantas por pote. Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) realizada através do teste de Tukey a 5% de probabilidade no Programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.5.1 Produção de massa fresca e seca das plantas

Na Figura 17, é possível notar características contrastantes que cada tratamento promoveu tanto no sistema radicular como na parte aérea de cada planta; para isto foi selecionado o material vegetal mais representativo.



**Figura 17:** Plantas representativas de cada tratamento.

**Legenda:** Tratamentos (1. Solução nutritiva (controle); 2. Sol + SH; 3. Sol + NaCl; 4. Sol+NaCl+SH; 5. Sol + F1745; 6. Sol+F1588; 7. Sol+F1597; 8. Sol+F1738; 9. Sol+SH+F1745; 10. Sol+SH+F1588; 11. Sol+SH+F1597; 12. Sol+SH+F1738; 13. Sol+NaCl+F1745; 14. Sol+NaCl+F1588; 15. Sol+NaCl+F1597; 16. Sol+NaCl+F1738; 17. Sol+SH+NaCl+F1745; 18. Sol+SH+NaCl+F1588; 19. Sol+SH+NaCl+F1597; 20. Sol+SH+NaCl+F1738.)

Sol= solução nutritiva

F1745= *Acaulospora mellea*

F1588= *Glomus formosanum*

F1597= *Rhizoglyphus clarum*

F1738= *Glomus* sp.

O crescimento das plantas de arroz foi afetado pela interação dos fatores SH×FMA×NaCl (Figura 18 e 19). Para a massa seca da parte aérea ( $MS_{PA}$ ) das plantas de arroz (Figura 18), a partir do desdobramento dos FMAs (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, no controle de SH e controle de NaCl foi maior para controle, *A. mellea* e *G. formosanum* em relação aos demais FMAs. Na presença de SH e controle de NaCl, o controle e *A. mellea* apresentaram maior produção de  $MS_{PA}$ . Contudo, no controle de SH e presença de NaCl foi maior para *A. mellea* e *R. clarum* em relação aos demais FMAs. O mesmo ocorre na presença de SH e presença de NaCl, onde controle e *A. mellea* apresentaram maior produção de  $MS_{PA}$ .

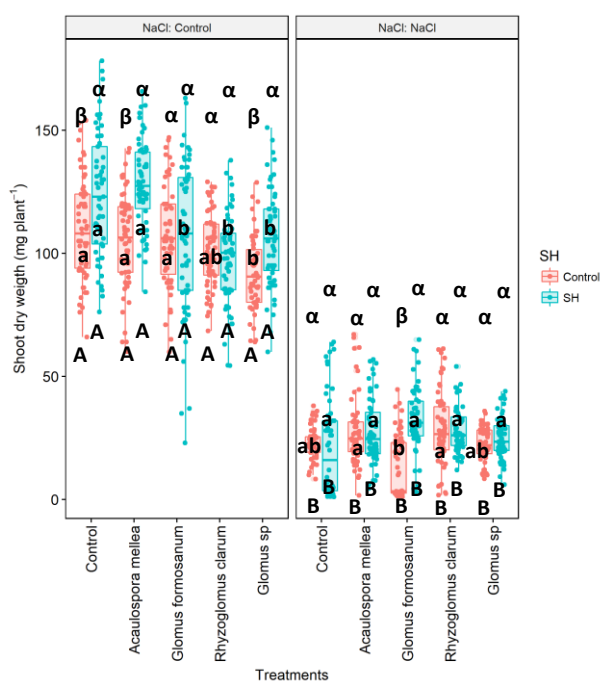
A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl, a  $MS_{PA}$  quando tratadas com SH no controle de NaCl e FMAs: controle, *A. mellea* e *Glomus* sp.

proporcionaram melhores respostas. Por outro lado, quando tratadas com SH na presença de NaCl e FMAs: *G. formosanum* proporcionou maior  $MS_{PA}$  em relação ao controle, os demais não diferiram.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, a  $MS_{PA}$  foi maior no controle em relação à presença de NaCl, com isso observa-se que o estresse salino reduziu significativamente a  $MS_{PA}$ .

Resultados semelhantes em que nem sempre a interação de FMA resultou em uma elevada produção de biomassa ou outro parâmetro fitotécnico, ou variação na resposta da interação, foram observados por Salgado (2014), cuja inoculação dos FMAs *D. heterogama* e *R. clarum* nas culturas de algodão e milho tiveram uma inibição no acúmulo de MSPA. Este fato é justificado pela presença de especificidade entre planta e hospedeiro (MOREIRA E SIQUEIRA, 2006), e de mesmo modo não é apropriado afirmar que as associações sempre estimularão o crescimento da planta (Klironomos, 2003).

Existem poucos relatos na literatura, quanto à interação da inoculação micorrízica e SH. Destaca-se nesse sentido um estudo realizado por EL-KHATEEB e colaboradores (2011), os quais verificaram um efeito sinérgico positivo da aplicação conjunta de *Glomus* sp e AH comerciais, em que adquiriram resultados com incrementos significativos na produção de biomassa seca, altura e diâmetro do caule de plantas *A. saligna*.



**Figura 18.** Massa seca da parte aérea das plantas de arroz produzida pela interação da SHxNaCl e a inoculação por FMA aos 44 DAG.

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Essa submissão ao estresse reduziu significativamente a biomassa produzida, possivelmente devido aos efeitos direto da toxicidade de íons e os efeitos indiretos de íons salinos

que provocam desequilíbrio osmótico no solo/planta (Abdel Latef, 2010). Resultado similar foi encontrado na literatura, ao avaliarem o efeito da interação dos fungos micorrízicos arbusculares em plantas de tomate sob estresse salino, observando que houve uma redução significativa da matéria seca das raízes, caule e folhas, além da área foliar, quando comparados com o tratamento controle, e demonstrou que a interação micorrízica promoveu um efeito positivo, principalmente, na matéria seca e área foliar nas plantas estressadas com a salinidade, sendo este efeito mais pronunciado na biomassa aérea do que na radicular (ABDEL LATEF & CHAOXING, 2011).

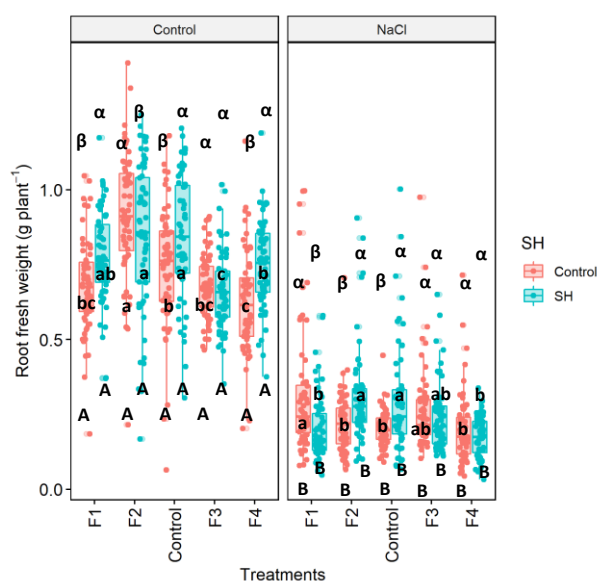
Todavia, foi perceptível a contribuição das associações micorrízicas arbusculares, ao mitigar os efeitos propiciados pela concentração salina, principalmente, quando a interação foi combinada com SH. Para reduzir os danos causados pelos óxidos reativos formados em sistema de defesa devido à salinização do meio, as plantas utilizam enzimas antioxidantes, como superóxido desmutase, catalase e glutathione peroxidase, para reduzir os acúmulos (CIA et al., 2012). A produção destas enzimas é diretamente influenciada pela presença do AH, favorecendo a degradação de óxidos como o  $H_2O_2$  (AGUIAR et al., 2016). Desta forma, a aplicação de AH influencia positivamente na obtenção de água e nutrientes para manutenção da planta, devido à função semelhante à da auxina (CANELLAS et al., 2012, 2015; TAVARES et al., 2016), tem função anti-tóxica, atuando na degradação de óxidos (AGUIAR et al., 2015), atua como agente indutor do alongamento da raiz (ZANDONADI et al., 2010; JINDO et al., 2012; CANELLAS et al., 2015; DOBBSS et al., 2016) e redução do potencial osmótico das folhas para regulação do transporte nutricional no interior da planta (AGUIAR et al., 2016), todas estas funções que agem como atenuadoras do estresse hídrico.

Na Figura 19, tem-se a massa fresca do sistema radicular ( $MF_R$ ) que a partir do desdobramento dos FMAs (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl no controle de SH e controle de NaCl houve maior  $MF_R$  na presença de *G. formosanum* em relação aos demais FMAs. Entretanto, na presença de SH a  $MF_R$  foi maior para o Controle, *G. formosanum* e *A. mellea* na ausência de NaCl. Quando foram tratadas sem SH sob estresse salino (presença de NaCl) em presença de *A. mellea* e *R. clarum* apresentaram maior  $MF_R$ . Porém, quando tratadas com SH e NaCl em presença de *G. formosanum*, *R. clarum* e Controle houve maior massa fresca radicular.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl, quando tratadas com SH, só ocorreu menor  $MF_R$  no controle de NaCl em presença de *G. formosanum*. Por outro lado, quando tratadas com SH houve menor  $MF_R$  na presença de NaCl na associação com *A. mellea*.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, a  $MF_R$  foi maior no controle em relação a presença de NaCl. Foi possível observar que a salinidade reduziu significativamente a massa fresca da raiz.

Certas espécies podem apresentar respostas variadas na capacidade de colonizar o hospedeiro, como demonstrado por Zaller e seus colaboradores (2011), em plantas de *Calendula officinalis*, em três espécies de Artemisia (Binet et al., 2011), os quais verificaram que a simbiose com FMA e planta não promoveu respostas significativas na massa seca radicular, ou até mesmo ocasionou redução de 60%, em relação ao controle não micorrizado, como foi mencionado por Binet et al. (2011).



**Figura 19.** Massa fresca da raiz das plantas de arroz produzida pela interação da SH e a inoculação por FMA sob estresse salino aos 44 DAG. F1= *Acaulospora mellea*; F2= *Glomus formosanum*; F3= *Rhizoglyphus clarum*; F4= *Glomus* sp

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Como alterações morfológicas, há evidências que os FMAs podem aumentar a expressão de uma variedade de características funcionais da planta além da biomassa. Bem como os parâmetros de crescimento, como comprimento da parte aérea, comprimento da raiz, peso fresco e seco, número de nódulos, número de folhas, número de vagem e dentre outros. Isso ocorre devido às diferenças genéticas de nível populacional na capacidade de resposta que provavelmente dá-se por meio das condições expostas no isolamento geográfico (BORDE et al., 2017; OSBORNE et al., 2017). Em alguns estudos na literatura, encontram-se resultados semelhantes em que os tratamentos com fungos micorrízicos arbusculares, independente da adição de fósforo, apresentaram aumentos na massa seca de raiz de 30,1% (4,88 g/planta) e 26,1% (4,73 g/planta), quando se inoculou as plantas com *G. margarita* e *G. clarum*, respectivamente, em relação às plantas cultivadas sem FMA (3,75 g/planta) (HEITOR et al., 2016).

### 5.5.2 Determinação de P na ponta da folha

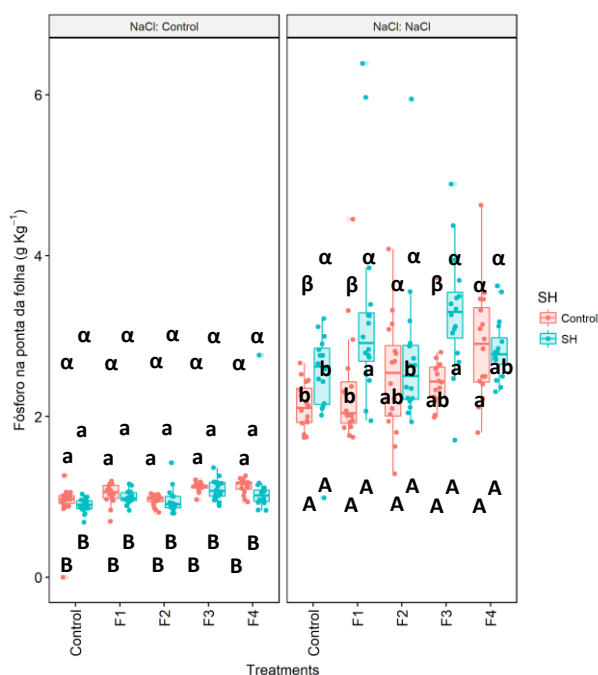
O fósforo é um nutriente importante para o desenvolvimento das plantas, sendo capaz de aumentar as produções de massa seca e frescas da parte aérea e raízes de calêndula (Moreira et al., 2005). Ele está envolvido diretamente nos processos de fosforilação e, portanto, no metabolismo energético, na transdução de sinais e na regulação da atividade celular (Berbara et al., 2006). Sua falta ocasiona significativo declínio no conteúdo de ATP e ADP, bem como dos conteúdos de enzimas (Duff et al., 1989).

Com os resultados desta análise verifica-se o nível de infecção micorrízica e o efeito de sua atividade, mensurados em termos de conteúdo de P na ponta das folhas (Figura 20). Sugerindo que a partir do desdobramento de FMA (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, o conteúdo de fósforo foliar (P) no controle de SH e controle de NaCl não houve diferença significativa entre as simbioses e o Controle. O mesmo ocorreu na presença de SH e controle de NaCl. Por outro lado, no controle de SH e em presença de NaCl houve maior alocação de P com o *Glomus* sp., *G. formosanum* e *R. clarum*. Entretanto, quando tratadas com SH e com NaCl houve maior P em presença de *A. mellea*, *R. clarum* e *Glomus* sp. em relação ao Controle e *G. formosanum*.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl, na presença de SH e controle de NaCl não houve diferença significativa entre associações micorrízicas e o Controle. Quando tratadas com SH e presença de NaCl, houve diferença significativamente maior para *A. mellea*, e controle de FMA em comparação as plantas sem SH, os demais não diferiram entre si.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de SH e FMA, a presença de NaCl aumentou significativamente o conteúdo de P em relação a ausência de NaCl. Houve uma contribuição significativa no aporte de P na parte aérea para plantas submetidas ao NaCl em relação aos demais.

Isto é justificado devido a SH ter a capacidade de regular a expressão de genes que codificam para transportadores de macro e micronutrientes (N, P, S e Fe) (Quaggiotti et al., 2004; Aguirre et al., 2009; Jannin et al., 2012; Jindo et al., 2016; Tavares et al., 2016).



**Figura 20.** Conteúdo de P (fósforo) na ponta das folhas em arroz obtido pela interação da substância húmica e a inoculação do FMA sob estresse salino aos 44 DAG. F1= *Acaulospora mellea*; F2= *Glomus formosanum*; F3= *Rhizoglyphus clarum*; F4= *Glomus* sp

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não obstante, os resultados foram bem explícitos que em condição adversa (sob estresse salino), independente do fungo e, principalmente, na presença de substância húmica os tratamentos denotaram sua contribuição no aporte de fósforo na parte aérea para as plantas quando se compara ao grupo de plantas que não se desenvolveram sob estresse salino. O metabolismo do fósforo nas plantas é também regulado pela ação das SH tanto de forma direta (Jindo et al., 2016) como indireta (Broadbent, 1986; Chen e Avead, 1990). De forma indireta, a matéria orgânica pode agir aumentando a disponibilidade de P para as plantas; isso pode ocorrer pela capacidade que os ácidos húmicos demonstram em diminuir a fixação de P no solo (Erro et al., 2012). Ainda que não sejam muitos os relatos sobre a ação direta das SH no metabolismo nutricional do P em plantas, há estudos que relacionam a capacidade das SH ao disponibilizar o P para as plantas e incrementar seu conteúdo em raízes e folhas na forma de P livre e de compostos complexos (Urrutia et al., 2013). Esse aumento na incorporação de P em plantas pela ação das SH pode ocorrer através do estímulo da expressão de genes que codificam para os transportadores de P (García et al., 2018). Segundo Jindo e colaboradores (2016), em estudos realizados com plantas de tomate, relataram que o tratamento com ácido húmico induziu a expressão do transportador de P de alta afinidade LePT2 e aumentou a biomassa radicular e a distribuição de espécies de P (glicerofosfodiéster e fosforilcolina) nas folhas.

Foi relatado na literatura, o aprimoramento das plantas na captação de P (Giri et al., 2007) por intermédio dos FMAs, sendo considerado uma das principais razões para a melhoria do crescimento em plantas micorrizadas quando afetadas pela salinidade (Ruiz-Lozano e Azcon, 2000). Segundo Berbara e colaboradores (2006), os aumentos na taxa de absorção do P propiciados pelas MAs podem ser atribuídos ao aumento do volume de solo explorado pelas hifas extra-radulares do fungo arbuscular; diâmetro pequeno da hifa que permite explorar espaços do volume do solo inatingíveis pela raiz; maiores taxas de influxo por unidade de superfície; a formação de polifosfatos (moléculas orgânicas sintetizadas pelo FMA ricas em P) os quais ocasionam a diminuição da concentração de Pi no interior das hifas, com o acúmulo de P em condições de alta disponibilidade deste elemento, e sua remobilização em condições de estresse, permitindo que ocorra um fluxo contínuo ao hospedeiro; e a produção de enzimas como fosfatases, que catalisam a liberação de P dos complexos orgânicos, permitindo sua absorção na forma iônica pelas plantas nas unidades arbusculares (Marschner & Dell, 1994).

De acordo com Bucking e Schachar-Hill (2005), o incremento da nutrição de P em plantas colonizadas ocasionará um aumento no crescimento e na atividade fotossintética; incremento na taxa de transferência de carboidratos para as raízes e uma elevação no efluxo ao apoplasto, em direção ao dreno imposto pelo fungo micorrízico. Assim como outros nutrientes, o fosfato é absorvido de forma seletiva contra um gradiente de potencial eletroquímico, esse processo de absorção é energeticamente dependente dos transportadores de P (simporte) e da ação das H<sup>+</sup>-ATPases. Estudos realizados por Smith e seus colaboradores (2003, 2004), demonstraram que os transportadores de fosfato envolvidos na sua absorção por raízes são distintos dos envolvidos pela absorção por raízes colonizadas. Supõem-se que há uma regulação genética dos mecanismos de transporte de Pi em sistemas MAs e que esta regulação é controlada diretamente pelo fungo, pois é reconhecido que genes que codificam para esses transportadores apenas são expressos na presença do fungo simbiote (Karandashov & Bucher, 2005).

Para Giri e colaboradores (2007), a simbiose micorrízica é um componente essencial para ajudar as plantas a lidar com condições ambientais adversas. Os resultados encontrados aqui estão de acordo com algumas literaturas, ao identificar uma influência positiva da inoculação com micorrizas arbusculares no crescimento das plantas demonstrando que a colonização das raízes com FMA pode aliviar os efeitos antagônicos do estresse salino (Giri et al., 2007). Tais



descobertas são consistentes com relatos anteriores para resposta do FMA em condições salinas (Feng et al., 2002, Hirrel e Gardemann, 1980, Ojala et al., 1983).

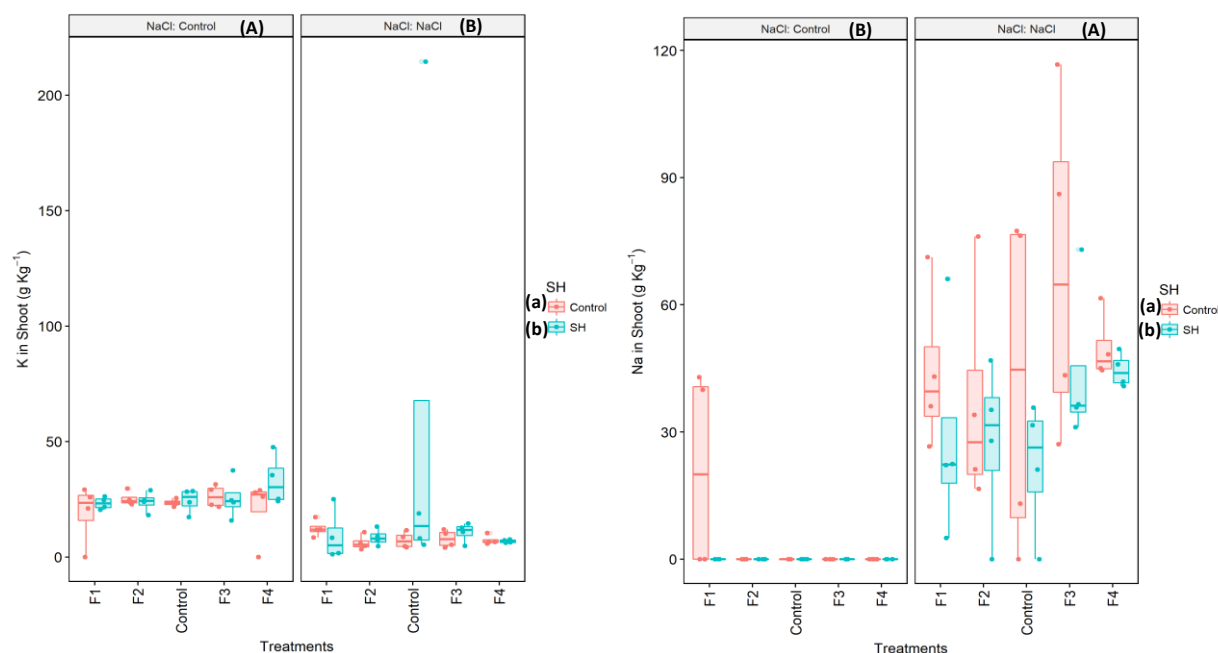
O nível ideal de fósforo ameniza o estresse por sais nas plantas (Awad et al., 1990). Já está bem consolidado nos estudos, que os MAs melhoram o status de P na planta, enquanto crescem em condições naturais deficientes de nutrientes. O crescimento melhorado das plantas micorrizadas em condições salinas está relacionado, principalmente, ao aperfeiçoamento do FMA na nutrição de P da planta hospedeira (Al-Karaki, 2000, Hanway e Heidel, 1952, Pond et al., 1984, Poss et al., 1985). Essa captação aprimorada de P pelas plantas inoculadas não explica totalmente a melhoria da tolerância ao sal, uma vez que outros mecanismos podem estar envolvidos (Duke et al., 1986). Segundo Pfeiffer e Bloss (1988), sustentaram que o principal efeito da micorriza na captação de sódio é através da mediação do acúmulo de P. Neste estudo, o tecido da parte aérea de plantas micorrizadas, apresentaram concentrações aparentemente mais altas de P para algumas espécies, pois para outras não houve incremento de P, do que as plantas que não foram inoculadas em condições salinas. O maior acúmulo de P pelas plantas inoculadas justifica o fato de que essa captação melhorada na planta sob estresse é uma estratégia primária dos fungos micorrízicos para proteger a planta do efeito deletério do excesso de sais (Giri et al., 2007).

### 5.5.3 Absorção de Na e K

Observou-se com os resultados obtidos por esta análise (Figura 21) que na quantificação do conteúdo de potássio não houve interações entre os tratamentos, observou-se a partir do fator principal SH (letras minúsculas) que não houve uma influência significativa no acúmulo de potássio nos tecidos da parte aérea com aplicação de SH independente da relação simbiótica estabelecida. Esta mesma resposta pode ser notada através do fator principal NaCl (letras gregas), em que ocorreu uma significativa redução na concentração de  $K^+$  em condições de salinidade.

Contrariamente à resposta do conteúdo de  $K^+$ , pode ser verificado na Figura 21, com relação ao acúmulo de  $Na^+$  na parte aérea. A partir do fator principal NaCl (letras gregas), um teor alto de  $Na^+$  em plantas submetidas ao estresse salino, independente da relação simbiótica. E através do fator principal SH (letras minúsculas), o teor de  $Na^+$  foi maior na ausência de SH, pois não ocorreu incrementos devido a aplicação de SH, impedindo o acúmulo de  $Na^+$  nos tecidos do vegetal.

Segundo Giri e colaboradores (2007), as plantas sujeitas a salinidade elevada acumulam menos potássio. O efeito prejudicial do Na, é em grande parte consequência de sua capacidade em competir com o K por sítios de ligação essenciais para várias funções celulares (Abdel-Latef e Chaoxing, 2011). O íon  $K^+$  encontra-se predominantemente como cátion livre ou como cátion adsorvido e pode facilmente ser deslocado das células ou dos tecidos vegetais (Lindhauer, 1985). O potássio tem diversas funções no metabolismo das plantas, ativa uma série de enzimas, cujo sódio não pode substituir este papel (Bhandal e Malik, 1988), ademais é considerado o mais importante e ativo componente inorgânico osmótico (Clarkson & Hanson, 1980).



**Figura 21.** Conteúdo de sódio (Na) e potássio (K) na parte aérea das plantas de arroz com a interação da SH e a inoculação de FMA submetidas ao estresse salino. F1: *A. mellea*; F2: *G. formosanum*; F3: *R. clarum*; F4: *Glomus* sp.

Letras minúsculas iguais dentro de cada nível de SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

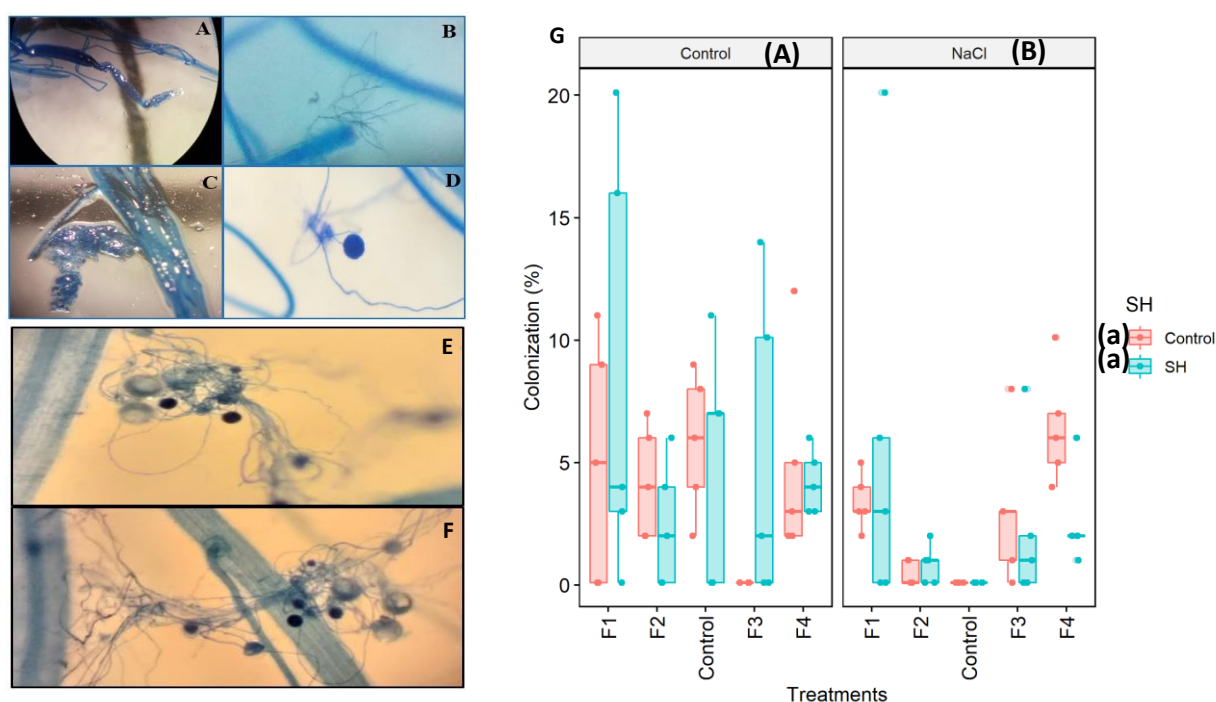
Supostamente, altos níveis de  $\text{Na}^+$  ou elevadas taxas de Na/K podem interromper vários processos enzimáticos no citoplasma (Abdel-Latef e Chaoxing, 2011). O  $\text{K}^+$  além de ativar diversas enzimas, atua na fotossíntese, favorece um alto estado de energia (necessária para a produção da ATP), mantém o turgor celular, regula a abertura e fechamento dos estômatos, promove a absorção de água, regula a translocação de nutrientes na planta, favorece o transporte e armazenamento de carboidratos, incrementa a absorção do nitrogênio e a síntese de proteínas, participa na síntese de amido nas folhas (Marschner, 1995). Ainda de acordo com este autor, em condições de salinidade, as plantas têm maiores dificuldades para se desenvolverem, devido ao aumento do estresse osmótico pela alta concentração de sal na solução do solo, o que reduz o potencial de água no mesmo, através do aumento na concentração de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  que se acumula no tecido e pela redução na absorção de nutrientes minerais. Essa redução do potencial hídrico do solo interfere na capacidade de absorção de nutrientes pelo vegetal, pois há uma maior retenção destes no complexo sortivo do solo e aumenta a disponibilidade de íons com caráter tóxico para a planta (DALIAKOPOULOS et al., 2016). Supõe-se que mediante ao estresse salino ocorra uma produção em excesso das Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), podendo originar o fenômeno conhecido como “explosão oxidativa” (Matamoros et al., 2006; del Rio et al., 2006).

Segundo Bernardo (1996), a cultura do feijão, por exemplo, é considerada pouco tolerante à salinidade da água de irrigação, podendo haver redução de até 50% na produção da cultura quando irrigada com água contendo valores acima de  $2,4 \text{ dS m}^{-1}$  de condutividade elétrica. Ainda não está bem estabelecido na literatura, a respeito dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos que melhoram a tolerância de plantas micorrizadas ao estresse abiótico, embora a maior absorção de nutrientes possa ser uma das justificativas da melhoria do estado nutricional da planta (Kafkas & Ortas, 2009). Entretanto, a salinidade pode modificar a formação e funcionamento da simbiose

micorrízica (He et al., 2007), o que é manifestado pela redução da colonização das raízes das plantas por alguns FMAs na presença de NaCl (Giri et al., 2007), provavelmente devido ao efeito direto de NaCl sobre os fungos (Juniper & Abbott, 2006).

### 5.5.4 Colonização micorrízica

A colonização micorrízica nos tratamentos, foi detectado um percentual relativamente baixo de colonização (Figura 22-G). Contudo, ao analisar algumas raízes (Figura 22 e 23) que receberam aplicação de SH e foram inoculadas com os FMAs *Glomus* sp (Figura 22 A-D) e *R. clarum* (Figura 22 E-F) e de acordo com os critérios estabelecidos pela metodologia, foi possível contabilizar a presença de colonização, sendo encontrado estruturas fúngicas nas raízes.



**Figura 5.** Estruturas de colonização micorrízica arbuscular [MA] em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda, tratadas com substância húmica (SH); e colonização micorrízica. Plantas tratadas com SH e a inoculação do FMA (*Acaulospora mellea*; *Glomus formosanum*; *Rhizoglyphus clarum*; *Glomus* sp.), em condições de estresse salino ou controle aos 44 DAG. Estruturas de colonização MA de *Glomus* sp. (A) esporos recém formados envolta da raiz; (B) hifas; (C) aglomerado de esporos recém formados, próximo à raiz; (D) esporo. (E, F) Estruturas de colonização MA de *R. clarum*. (G) Percentual de colonização micorrízica.

Letras minúsculas iguais dentro de cada nível de SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com base em estudos anteriores que se concentraram nos efeitos do suprimento de nutrientes e do FMA no crescimento das plantas e na alocação dos recursos disponíveis (Miller et al., 2002, Yucel et al., 2009), a colonização micorrízica depende da disponibilidade de nutrientes do solo, especialmente a disponibilidade de fósforo (P). Com baixa disponibilidade desse nutriente, ou seja, quando as plantas são limitadas por P, as mesmas normalmente alocam uma fração maior de carbono disponível, promovendo assim a colonização por FMA (Johnson, 2010). Com alta

disponibilidade de P no solo, os FMAs recebem menos carbono do hospedeiro (planta) e são amplamente limitados em carbono, como consequência, espera-se uma baixa colonização (Treseder e Allen, 2002). Na Figura 22-G, ao analisar quanto à infecção nas raízes foi detectado uma taxa de 20% de colonização. Diante disso, notoriamente as plantas que receberam a SH e foram inoculadas com os FMAs *R. clarum* e *Glomus* sp. apresentaram estruturas fúngicas nas raízes (Figura 22 A-F).

Sendo assim, foi observado o percentual de colonização micorrízica e os resultados demonstraram a partir do desdobramento de SH (letras minúsculas), que a aplicação de SH não expressou uma contribuição favorável significativamente na taxa de colonização. No entanto, ao considerar o desdobramento de NaCl (letras gregas), foi constatado que ocorreu variação média de 0 a 12% de colonização nas raízes, cujo tratamento com SH e o fungo *A. mellea* expressou o maior percentual.

Além disso, foi verificado que a taxa de colonização por FMA foi reduzida com a submissão à salinidade. Isso está de acordo com estudos anteriores feitos em *Pistacia*, trevo, citros e morangos (McMillen et al. 1998; Abbaspour et al. 2006; Yang et al. 2009; Wu et al. 2010). A colonização reduzida pode ocorrer porque o sal inibe a germinação de esporos de FMA ou a colonização de plantas hospedeiras (Juniper e Abbott 1993; Smith e Read 2008). As plantas podem responder ao estresse salino nos níveis morfológico e celular com modificações que lhes permitem evitar o estresse ou aumentar sua tolerância. E ainda assim, houve uma predominância dos fungos *A. mellea*, *R. clarum* e *Glomus* sp, quando os mesmos foram combinados com aplicação de SH na ausência de estresse salino. Contrariamente a esta condição, o *Glomus* sp foi mais expressivo sob a salinidade e sem a utilização do humato, em que foi possível encontrar suas estruturas de colonização. Segundo Santos Carrenho (2011), exsudados radiculares favorecem a germinação de esporos de algumas espécies do gênero *Glomus* fazendo com que este gênero ocorra em maior quantidade quando comparado a esporos de outros gêneros de FMA. A alta frequência desse gênero pode ainda estar relacionada à sua funcionalidade ecológica ou a sua capacidade de adaptarem-se e perpetuarem-se em sistemas com baixo ou alto nível de degradação ambiental (BAREA et al., 2011). Mirás-Avalos et al. (2011) concordam com o resultado do presente estudo, pois em uma área de cultivo convencional, espécies do gênero *Glomus* prevaleceram sobre outras espécies, indicando maior adaptação desse gênero a solos com manejo intenso.

Possivelmente, a metodologia utilizada não tenha sido tão benéfica e até mesmo o tempo de colonização. De acordo com padrão morfológico de colonização micorrízica apresentado na raiz de arroz, a habilidade do fungo para colonizar e fornecer nutrientes, como P, Cu, além de outros macro e micronutrientes, poderá diferir em razão do tipo morfológico de raiz, justificando estudos sobre a ocorrência do padrão morfológico em plantas consideradas de interesse agrônomo, como espécies produtoras de grãos, plantas frutíferas, arbóreas e até mesmo em plantas de crescimento espontâneo, pois essas possuem rápido desenvolvimento e impactam negativamente a produção das plantas cultivadas (MAJEWSKA et al., 2015; GALVÃO et al., 2014).

No estudo de Demir e colaboradores (2015), avaliaram a colonização radicular do tomateiro inoculado no FMA e com adição de ácido húmico e observaram que a colonização radicular variou de 21 a 44%. Porém, de acordo com Douds Jr. e colaboradores (2016) conduzido a campo por sete anos com plantas de tomate inoculadas com FMAs, observaram que colonização radicular do tomateiro inoculado variou de 1 a 10%, mesmo assim com baixa colonização, os autores concluíam que houve aumento significativo no crescimento e na produção do tomateiro, mesmo em condições que apresentam elevada presença de P. Isto indica que o tomateiro não apresenta uma elevada colonização radicular, como foi observada no presente estudo. Segundo

Zangaro e colaboradores (2012), ao analisarem culturas de sucessão ecológica verificaram aumento das concentrações de nutrientes no solo e nas raízes acompanhado por diminuição da área das raízes e da colonização micorrízica. Estudos conduzidos com plantas arbóreas inoculadas com FMA já apresentaram CV baixo para colonização micorrízica (SCABORA et al., 2011). Diversos fatores podem influenciar o percentual de colonização micorrízica, sendo que um dos mais importantes é a relação entre a espécie de FMA e a planta, pois a espécie vegetal possui mecanismos de sinalização e controle da colonização radicular (ANGELINI et al., 2013). Duponnois (2005) relataram que a inoculação de *Glomus intraradices* aumentou a biomassa da planta e a concentração de P em *Atriplex nummularia*, mas nenhum arbúsculo foi observado no interior das raízes. Manjarrez et al. (2010) mostrou que os arbúsculos não são uma exigência absoluta na transferência de P para a planta, sendo esta função desempenhada por hifas intracelulares. Smith e Smith (2011a), relataram que hifas intracelulares, arbúsculos e estruturas da morfologia intermediária estão envolvidos na transferência de nutrientes para a planta hospedeira e não apenas os arbúsculos. Brundett (2009) afirma que estruturas microscópicas de FMA, como os arbúsculos, podem ser difíceis de serem identificados em raízes coletadas de áreas de cultivo ou áreas nativas. Devido à idade da raiz, se elas não são jovens, maior será a dificuldade para identificar estruturas de FMA, além disso, o autor recomenda a coleta de raízes em diferentes estádios de crescimento da planta. Todavia, Stonor et al. (2014) observaram em trigo que a taxa de colonização micorrízica com *Rhizophagus irregulares* e *Gigaspora margarita* aumentou com a idade da planta no momento da colheita das raízes para análise, devido a colonização por FMA nas raízes desta planta ocorrer de forma lenta.

### 5.5.5 Morfologia do sistema radicular

Ao analisar os parâmetros morfológicos radiculares (Figura 23), foi possível observar que houve uma influência positiva na variável área de superfície total radicular (Figura 23-A) (S.A.) observando-se a partir do desdobramento dos FMAs (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, a S.A. no controle de SH e controle de NaCl foi maior para Controle, *A. mellea*, *G. formosanum* e *R. clarum* em relação ao *Glomus* sp. Entretanto, nas mesmas condições, apenas o Controle, *G. formosanum* e *A. mellea* na classe de raízes grossas (Figura 25) proporcionaram maior S.A. quando comparados aos demais FMAs. Porém, na presença de SH e controle de NaCl destacaram-se o Controle, *A. mellea* e *G. formosanum* promovendo maior S.A. do que *R. clarum* e *Glomus* sp.; contrariamente, na classe de raízes superfina (Figura 25) não houve diferença entre os tratamentos, mas, nas classes fina e grossa (Figura 25) houve menor S.A. para *R. clarum* e *Glomus* sp. No controle de SH e presença de NaCl a S.A foi maior para *A. mellea* e *R. clarum* em relação aos demais FMAs. O mesmo ocorreu nas três classes de raiz (Figura 25). Contudo, na presença de SH e de NaCl e presença de *Glomus* sp. houve menor S.A. Na classe de raízes grossas (Figura 25), apenas o Controle e *G. formosanum* promoveram maior S.A. quando comparados aos demais FMAs.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl quando tratadas com SH no controle de NaCl ocorreu menor S.A. apenas em presença de *R. clarum*. O mesmo ocorreu nas classes fina e grossa (Figura 25) e na classe de raízes superfina (Figura 25) não houve diferença significativa entre os FMA e o Controle. Todavia, quando tratadas com SH na presença de NaCl houve menor S.A. para *A. mellea* e *Glomus* sp. No entanto, nas três classes de raízes (Figura 25) a menor S.A. foi em presença de *A. mellea* tratadas com SH e NaCl.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, tem-se uma redução expressiva da S.A. sob o estresse salino (presença de NaCl) em relação a controle de NaCl, afetando inclusive as três classes de raízes (Figura 25).

O sistema de raízes finas é diretamente influenciado pela disponibilidade dos nutrientes no solo durante o crescimento vegetal, apresentando alta plasticidade morfológica (Zangaro et al., 2008). Sendo assim, a produção e a superfície de absorção aumentam à medida que diminui a fertilidade do solo (Hodge, 2004) entre as diferentes espécies de plantas (Zangaro et al., 2007).

O aumento na área de absorção das raízes para aquisição de nutrientes pode também ser obtido pela associação entre raízes de plantas e fungos do solo, como os formadores de micorrizas (Moreira e Siqueira, 2002). As hifas dos fungos micorrízicos arbusculares apresentam pequeno diâmetro e penetram em pequenos poros do solo onde as raízes finas e os pêlos absorventes não conseguem alcançar, permitindo maior exploração de nutrientes, que são transferidos para planta hospedeira (Peterson e Farquhar, 1996). Devido ao seu pequeno diâmetro, a produção das hifas dos FMAs é menos custosa em termos de carbono e energia, do que a produção de raízes finas (Fitter, 1991), sendo mais eficiente na obtenção de nutrientes do que as raízes (Smith e Read, 1997).

Para o volume total de raiz (V) (Figura 23-B), observou-se a partir do desdobramento dos FMAs (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, o V no controle de SH e controle de NaCl foi maior para o Controle e *G. formosanum* em relação aos demais FMAs. Porém, o V nas classes das raízes superfina e fina (Figura 26) foi menor em presença de *Glomus* sp. Entretanto, na presença de SH e controle de NaCl nas interações simbióticas com *A. mellea* e *G. formosanum* propiciaram maior V quando comparadas aos demais. Mas, na classe de raízes grossas (Figura 26) em presença de *A. mellea* e no Controle houve maior V. No controle de SH e presença de NaCl houve maior V nas associações com *A. mellea* e *R. clarum*. Na classe de raízes grossas (Figura 26) a presença de *A. mellea*, *G. formosanum* e *R. clarum* proporcionou maior V. Contudo, na presença de SH e presença de NaCl nas simbioses com *A. mellea* e *Glomus* sp. proporcionaram menor V. Já, nas classes de raízes superfina e finas (Figura 26) apenas o *Glomus* sp. proporcionou menor V.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl quando tratadas com SH no controle de NaCl ocorreu menor V em presença de *R. clarum*. O mesmo pode ser verificado nas classes de raízes fina e grossa (Figura 26) com menor V na presença de *R. clarum*. Na classe de raiz superfina (Figura 26) não houve diferença significativa entre a micorrização e o Controle. Todavia, quando tratadas com SH e com NaCl em presença de *A. mellea* apresentou menor V em relação ao controle sem SH. O mesmo ocorre na classe de raiz superfina (Figura 26), em que *A. mellea* e *Glomus* sp. reduziram o V.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, houve redução significativa de V sob estresse salino (presença de NaCl) em relação ao controle de NaCl, o qual afetou as três classes de raiz (Figura 26).

A partir do desdobramento dos FMAs (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, o comprimento total radicular (L) no controle de SH e controle de NaCl (Figura 23-C) foi maior para Controle, *A. mellea*, *G. formosanum*, *R. clarum* em relação ao *Glomus* sp. Semelhante a isso, ocorreu nas classes de raízes (Figura 27). Entretanto, na presença de SH e controle de NaCl, os FMAs proporcionaram maior L do que *R. clarum*; o L nas classes de raízes finas e grossas foi menor (Figura 27), em presença de *R. clarum* e *Glomus* sp. No controle de SH e presença de NaCl foi maior para *A. mellea* e *R. clarum* em relação aos demais. Nestas condições, nota-se que *A. mellea* se destacou igualmente nas três classes de raízes, promovendo maior L. Porém, na presença de SH e de NaCl apenas *A. mellea* e *Glomus* sp. proporcionou menor L. Foi visto que

na classe de raízes grossas (Figura 27), *A. mellea* e *Glomus* sp. expressaram menor L quando tratadas com SH e submetidas a presença de NaCl.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl, quando tratadas com SH no controle de NaCl só ocorreu menor L em presença de *R. clarum*. O mesmo pode ser notado nas classes fina e grossa das raízes (Figura 27). Por outro lado, quando tratadas com SH na presença de NaCl houve menor L para *A. mellea* e *Glomus* sp. De modo semelhante, na classe superfina (Figura 27) também foi significativo o efeito destas duas espécies, cujo L foi menor em relação aos demais FMAs.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, o estresse salino (presença de NaCl) reduziu significativamente o L em relação a ausência de NaCl. Modo semelhante ocorreu em cada classe de raiz (Figura 27).

Na Figura 24-D, com relação ao número de bifurcações das raízes (F) nota-se a partir do desdobramento de FMA (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, o F no controle de SH e controle de NaCl não houve diferença significativa entre as interações micorrízicas e o Controle. Entretanto, na presença de SH e controle de NaCl houve maior F para *Glomus* sp. quando comparado aos demais. Porém, quando tratadas sem SH sob presença de NaCl ocorreu menor F na presença de *R. clarum*. Por outro lado, em presença de SH e NaCl não houve diferença significativa entre as simbioses e o Controle.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl, quando tratadas com SH no controle de NaCl houve diferença significativamente maior entre *Glomus* sp. e o controle de SH. Contudo, na presença de SH e NaCl o F foi menor para *Glomus* sp.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, o F foi menor na presença de NaCl em relação ao controle (ausência de NaCl). O estresse salino interferiu na redução expressiva do número de bifurcações radiculares.

De acordo com a Figura 24-E, observou-se a influência dos tratamentos no número total de pontas da raiz (T), e a partir do desdobramento dos FMAs (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, o T no controle de SH e controle de NaCl foi maior para Controle, *A. mellea* e menor em *Glomus* sp. Entretanto, na presença de SH e controle de NaCl houve aumento de T nas associações com *Glomus* sp. e *A. mellea*. O mesmo ocorreu no controle de SH e presença de NaCl, em que *A. mellea* e *Glomus* sp. promoveram maior T. Porém, quando tratadas com SH em salinidade (com NaCl) não houve diferença significativa entre as simbioses e o Controle.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl, ocorreu o menor T quando tratadas com SH no controle de NaCl em presença de *R. clarum* e no Controle. Por outro lado, quando tratadas com SH em presença de NaCl houve menor T quando micorrizada com *A. mellea*.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, o estresse salino (presença de NaCl) reduziu expressivamente o T em relação ao controle de NaCl.

Alguns autores encontraram resultados semelhantes quando trataram as plantas apenas com ácido húmico de diferentes fontes, obtiveram o aumento no crescimento das raízes e a proliferação de raízes laterais em plântulas de milho (Canellas et al., 2002, Zandonadi et al., 2007) e em *Arabidopsis* (Dobbss et al., 2007) também foi relatado maior crescimento de raízes secundárias e um maior número e comprimento de raízes laterais quando comparadas às plantas controle.

Na Figura 24-F, em relação ao diâmetro médio total da raiz (AvD), tem-se que a partir do desdobramento de FMA (letras minúsculas) dentro de cada nível de SH e NaCl, no controle de SH e controle de NaCl houve maior AvD para o Controle, *G. formosanum*, *R. clarum* e *Glomus*

sp. em relação a *A. mellea*. Entretanto, na presença de SH e controle de NaCl ocorreu menor AvD em presença de *R. clarum* e *Glomus* sp. Porém, no controle de SH e presença de NaCl houve maior AvD para o Controle, *A. mellea*, *G. formnosanum* e *R. clarum* em relação ao *Glomus* sp. Contudo, na presença de SH e NaCl houve menor AvD para *R. clarum*.

A partir do desdobramento de SH (letras gregas) dentro de cada nível de FMA e NaCl, quando tratadas com SH no controle de NaCl houve menor AvD apenas em presença de *Glomus* sp. Por outro lado, em presença de SH e de NaCl não houve diferença significativa entre as associações micorrízicas e o Controle.

A partir do desdobramento de NaCl (letras maiúsculas) dentro de cada nível de FMA e SH, o AvD foi maior na presença de NaCl em relação a ausência de NaCl especialmente quando micorrizadas com *A. mellea*, *R. clarum* e *Glomus* sp. O estresse salino influenciou no aumento significativo do diâmetro médio radicular.

Segundo Kapoor e colaboradores (2008), a colonização micorrízica pode alterar a morfologia dos sistemas radiculares de maneira estrutural, espacial, quantitativa e topológica. Em estudos de Fan e colaboradores (2011), verificaram que o sal diminuiu as características radiculares, incluindo comprimento, área superficial, volume, diâmetro médio e número de bifurcações em cultivares de morango colonizadas com FMA sob estresse salino. No entanto, a associação micorrízica em condições favoráveis aumentou esses parâmetros, o que é consistente com os estudos sobre cherimólia, videira e maçã (Azcón-Aguilar et al. 1996; Locatelli et al. 2002; Aguin et al. 2004). Os sistemas radiculares apresentam um alto grau de plasticidade em seu desenvolvimento em resposta à heterogeneidade local do solo. As diferenças entre os ambientes de crescimento podem influenciar a capacidade competitiva de adquirir recursos do solo, a capacidade adaptativa do solo rico em nutriente e pobre em nutrientes da arquitetura do sistema radicular e, conseqüentemente, o desenvolvimento e crescimento da planta (Sorgonà et al. 2007). A alteração da morfologia do sistema radicular pela FMA provavelmente pode ser interpretada em dois aspectos: (i) o estado nutricional modificado e (ii) o nível alterado de fito-hormônio (Yao et al. 2005).

Quando foi quantificada as variáveis relacionadas ao volume (Figura 23), área e comprimento de raízes totais, em salinidade, foi verificado um efeito na área radicular influenciada pelos FMAs. Diferindo-se estatisticamente o efeito entre as espécies de fungos, em que *Acaulospora mellea* (F1) foi mais expressivo. Resultados similares foram encontrados, relacionados ao incremento de área radicular estimulados por FMAs inoculados em raízes de manjerição roxo (Nobre, 2011). Entretanto, ao aplicar a SH em plantas que foram inoculadas, destacam-se os FMAs *Glomus formosanum* (F2) e *Rhizoglyphus clarum* (F3) por promoverem maior área ocupada pelas raízes quando combinadas com os efeitos da substância húmica.

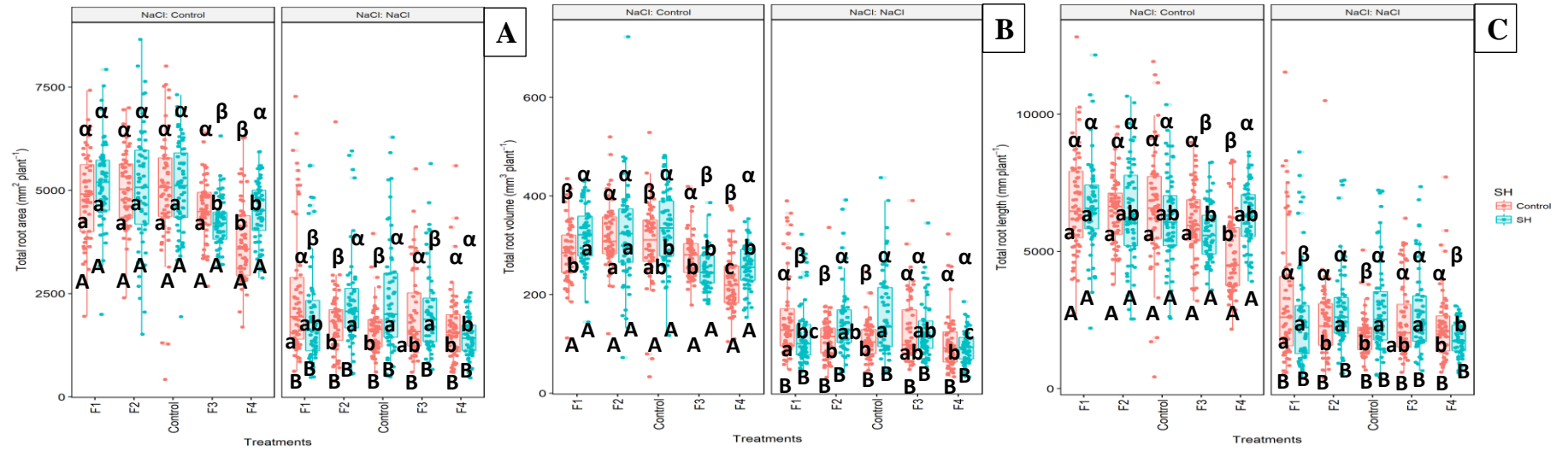
De acordo com Lima (2008), as raízes de manjerição desenvolvidas em meio com ácido húmico abundante, constatou que o tratamento com 20 mg C L<sup>-1</sup> propiciou o aumento da área radicular. Ainda segundo este autor, a correlação entre o comprimento e a área radicular das diferentes concentrações de AH em quatro períodos de avaliação foi positiva e alta. A interação da substância húmica com os microrganismos é justificada através das características estruturais, participando como aceptoras de elétrons por meio da redução de quinonas e de semiquinonas que ocorre na respiração microbiana (Scott et al., 1998). Além disso, as SH podem atuar nas plantas por meio do fornecimento de fitormônios ou de estruturas semelhantes que se aglomeram e/ou, penetram na superfície e no interior das plantas. Independente da forma de atuação, as condições existentes na rizosfera (pH, potencial redox, microbiota) são de extrema relevância ao explicar as interações (García et al., 2018). Diversos estudos têm relatado as hipóteses da ação tipo auxina das SH (Canelleas et al., 2002; Dobbss et al., 2010; Trevisan et al., 2010; Muscolo et al., 2013), isso porque as auxinas são responsáveis pela emissão de raízes secundárias e pelo crescimento



radicular nas plantas (Canellas et al., 2002; Dobbss et al., 2010). Todavia, as SH têm mostrado regular as sínteses de ABA (García et al., 2014; Olaetxea et al., 2015). O ABA, além de regular os processos relacionados com a resposta a estresses bióticos e abióticos, estimula o crescimento radicular em baixas concentrações (Xing et al., 2016).

O ABA também participa nas vias de ação reguladas pelas SH em condições de estresse (García et al., 2014; Olaetxea et al., 2015), tendo em vista que estresses, como o osmótico, provocam um aumento nos níveis de ABA nas raízes, relevantes para seu crescimento e desenvolvimento (Xu et al., 2013; Liu et al., 2014). Em condições de estresse osmótico moderado, o acréscimo de ABA pode aumentar o transporte de auxina e, como consequência, induzir a atividade das H<sup>+</sup>-ATPase e aumentar o alongamento radicular (Xu et al., 2013; Liu et al., 2014).

Muitos estudos têm evidenciado que as SH exercem efeitos no metabolismo de defesa antiestresse (Trevisan et al., 2011; García et al., 2012; Jannin et al., 2012; Berbara e García, 2014; García et al., 2014; Aguiar et al., 2016). Entretanto, a resposta das plantas a estresses aborda também uma regulação das interações entre EROs e auxinas (Tognetti et al., 2012). As interações auxina-EROs são variadas, envolvendo processos de crescimento e desenvolvimento do sistema radicular. As auxinas podem induzir à produção de EROs, como o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o ânion O<sub>2</sub>, facilitando o afrouxamento da parede celular e o aumento do alongamento celular e do crescimento das raízes (Tognetti et al., 2012). Contudo, uma elevada produção de EROs pode ocasionar degradação oxidativa das auxinas (Kawano, 2003). Essas vias de ação das SH associadas às rotas de sinalização, seja via hormonal ou pela via EROs, através da regulação oxidativa nas plantas, podem resultar em eventos benéficos de crescimento, desenvolvimento radicular e formas de defesa antiestresse (Berbara e García, 2014).



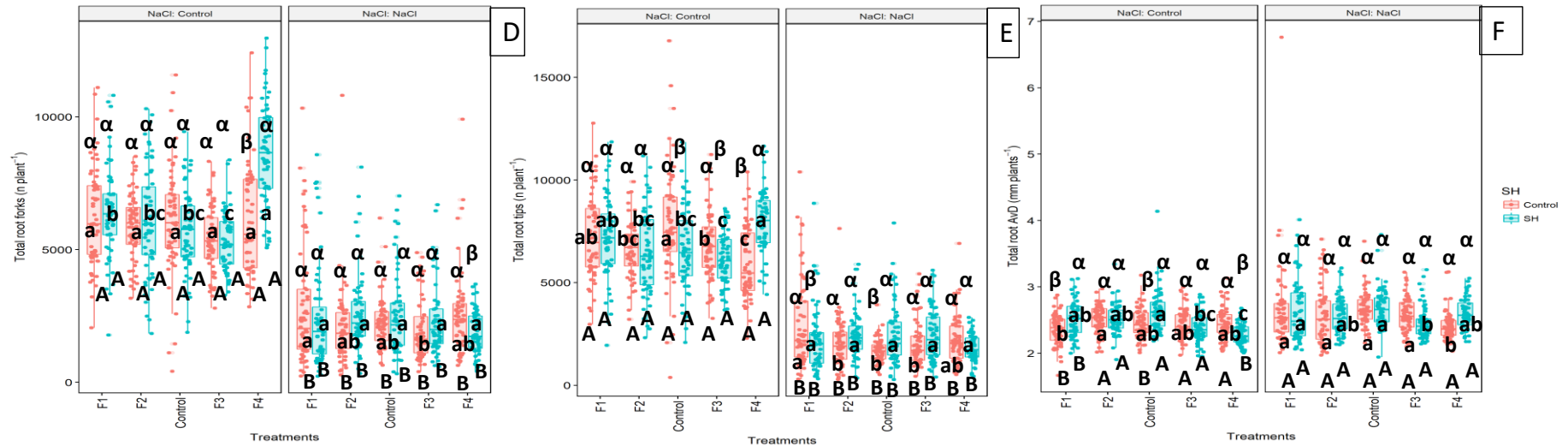
**Figura 23.** Efeitos da SH-Vc nos parâmetros morfológicos da raiz de plantas de arroz inoculadas com FMA sob estresse salino. A- área total; B- volume total; C- comprimento total.

F1: *A. mellea*; F2: *G. formosanum*; F3: *R. clarum*; F4: *Glomus* sp.

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



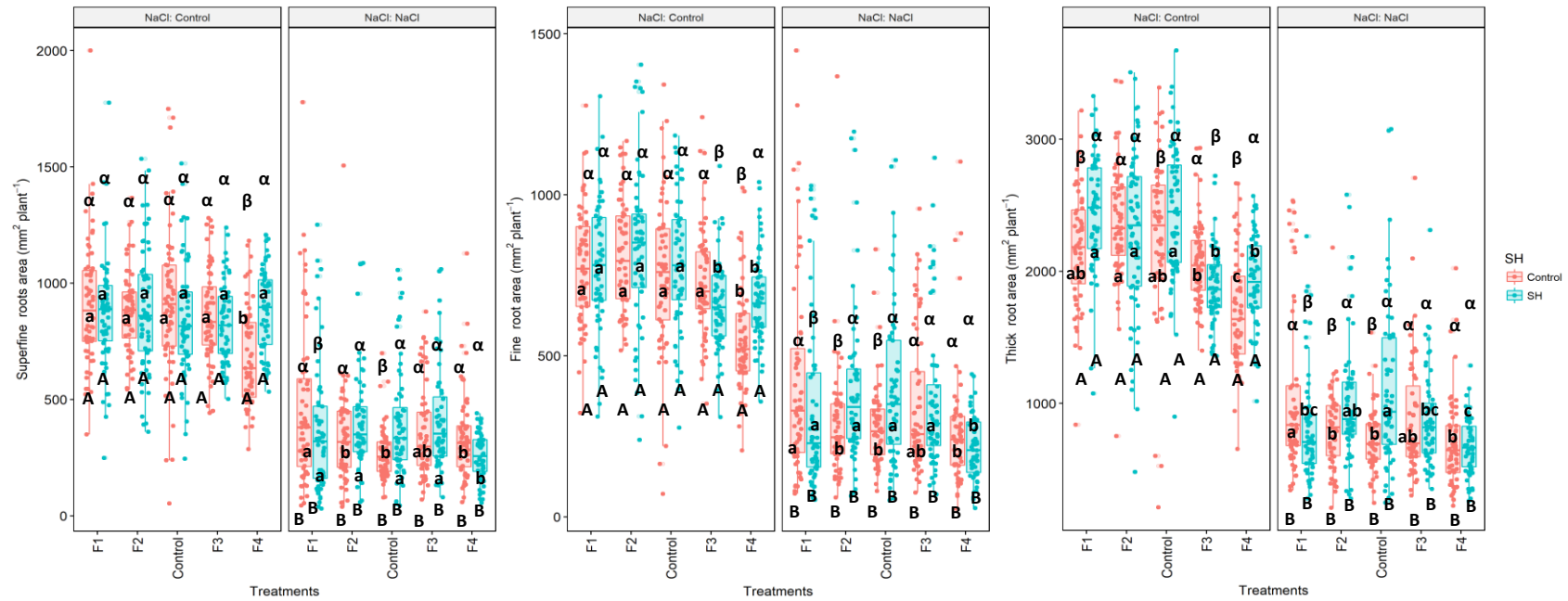
**Figura 24.** Efeitos da SH-Vc nos parâmetros morfológicos da raiz de plantas de arroz inoculadas com FMA sob estresse salino. D- Número de bifurcações; E- Número de pontas; F- Diâmetro médio total.

F1: *A. mellea*; F2: *G. formosanum*; F3: *R. clarum*; F4: *Glomus* sp.

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



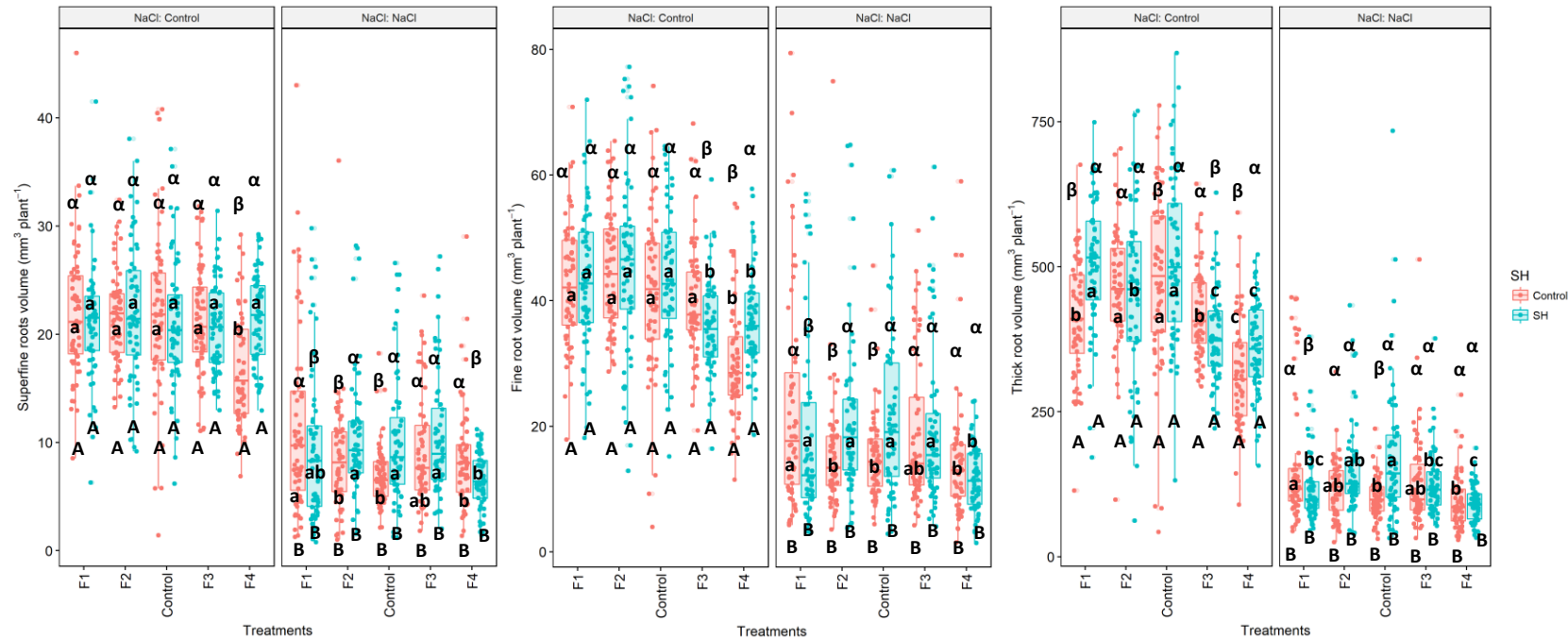
**Figura 25.** Área radicular mensurada dentro das classes de raízes superfino ( $0,5 < d < 1,5$  mm); fino ( $1,5 < d < 3,5$  mm) e grossa ( $d > 3,5$  mm) em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda na interação da SH com FMA sob estresse salino.

F1: *A. mellea*; F2: *G. formosanum*; F3: *R. clarum*; F4: *Glomus* sp.

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



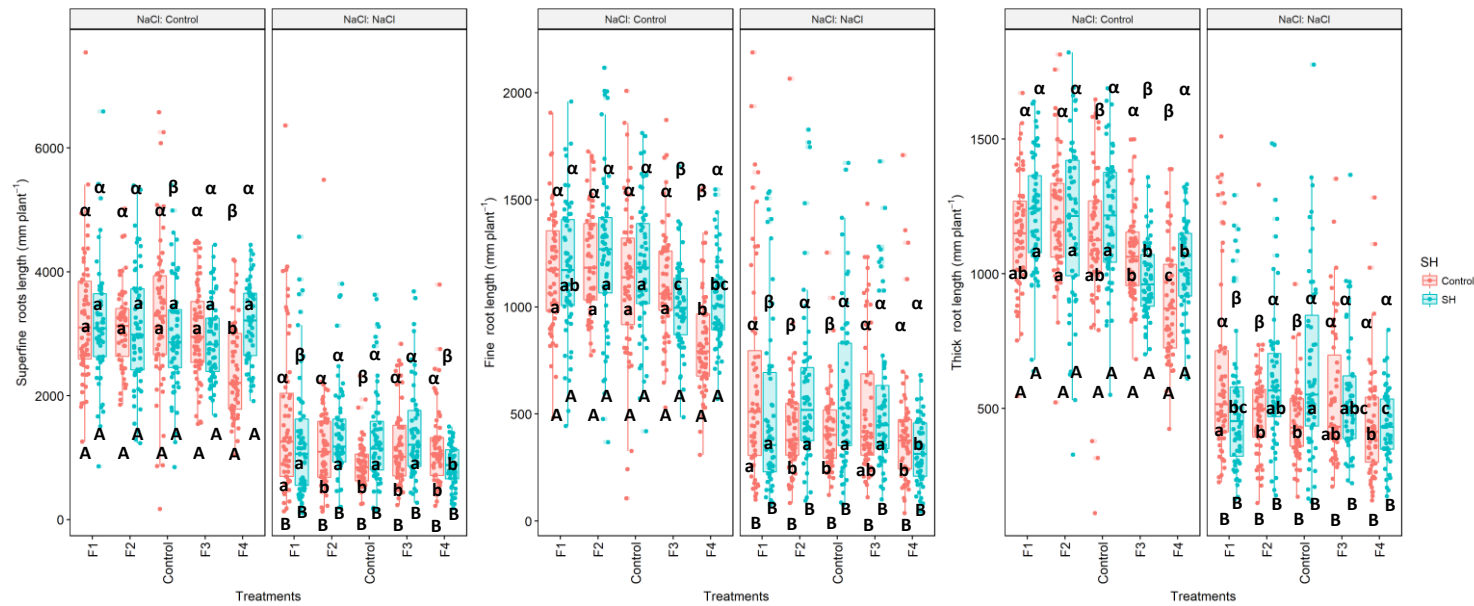
**Figura 26.** Volume radicular mensurado dentro das classes de raízes superfino ( $0,5 < d < 1,5$  mm); fino ( $1,5 < d < 3,5$  mm) e grossa ( $d > 3,5$  mm) em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda na interação da SH com FMA sob estresse salino.

F1: *A. mellea*; F2: *G. formosanum*; F3: *R. clarum*; F4: *Glomus* sp.

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



**Figura 27.** Comprimento radicular medido dentro das classes de raízes superfino ( $0,5 < d < 1,5$  mm); fino ( $1,5 < d < 3,5$  mm) e grossa ( $d > 3,5$  mm) em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda na interação da SH com FMA sob estresse salino.

F1: *A. mellea*; F2: *G. formosanum*; F3: *R. clarum*; F4: *Glomus* sp.

Letras minúsculas iguais entre FMA dentro de cada nível de SH e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras gregas iguais entre SH dentro de cada nível de FMA e NaCl, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas iguais entre NaCl dentro de cada nível de FMA e SH, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 5.6 CONCLUSÕES

A associação da substância húmica, na sua forma íntegra isolada de vermicomposto, com os fungos micorrízicos arbusculares *R. clarum* e *A. mellea* apresentou um efeito positivo no crescimento do arroz, em relação aos parâmetros morfológicos radiculares e produção de biomassa tanto da parte aérea como da raiz, ao incrementar a absorção de fósforo (P) na parte aérea quando as plantas foram submetidas ao estresse salino. Sendo o FMA *Rhizoglyphus clarum*, o que apresentou de forma mais expressiva a absorção de tal nutriente. Entretanto, em relação ao Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> houve aumento do conteúdo de sódio na parte aérea das plantas que não foram tratadas com SH.

A partir da colonização micorrízica na presença da substância húmica foi possível observar estruturas do microrganismo responsáveis por estabelecer a simbiose fungo-planta (hifas, esporos), resultando assim, um efeito positivo na interação desses fatores.

## 6. CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados confirmam a hipótese de que as substâncias húmicas influenciam no desenvolvimento e metabolismo sobre a cultura do arroz, além de promover uma melhor interação fungo-planta submetidos às condições de salinidade.

A substância húmica apresentou características químicas e estruturais de acordo com sua origem, em que demonstraram predominância de estruturas alifáticas podendo indicar a presença de substâncias em estado inicial de humificação e estar relacionada à presença de material compostado com pouca maturidade.

As plantas de arroz tratadas com a SH, na sua forma íntegra, apresentaram aumento no desempenho fotossintético com as concentrações de 40 e 60 mg L<sup>-1</sup>, 144 horas após aplicação. Nas primeiras horas, a redução na eficiência fotossintética possivelmente desempenhou um papel de sinalização, o que posteriormente acarretou no aumento do crescimento da planta de arroz. Houve alterações nas características estruturais do sistema radicular por efeito da aplicação da substância húmica.

A aplicação de SH em plantas submetidas a estresse salino reduzem os efeitos negativos da salinidade ao incrementar os parâmetros morfológicos do sistema radicular, principalmente, área, número de raízes laterais, volume, comprimento e biomassa fresca, em relação aos tratamentos salinos sem SH. Além de promover aumento do conteúdo de fósforo na parte aérea como tolerância à salinidade.

A interação SH e inoculação com FMA *Rhizoglossum clarum* apresentou um efeito positivo na morfologia e nutrição das plantas contribuindo favoravelmente com a biomassa radicular e da parte aérea. No sistema radicular a interação substância húmica com os microrganismos influenciou na presença de estruturas micorrízicas.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOT; L. K.; MURPHY; D. V. What is soil biological fertility? In: ABBOTT; L. K.; MURPHY; D. V. (eds.). Soil biological fertility. The Netherlands: Springer; 2007. p. 1-15.
- ABDEL LATEF A, CHAOXING H (2011) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Sci Hortic* 127:228–233
- ABDEL LATEF; A.A.H. & CHAOXING; H. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth; mineral nutrition; antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Sci. Hortic.*; 127:228-233; 2011.
- AGUIAR NETTO; A. O.; GOMES; C. C. S.; LINS; C. C. V.; BARROS; A. C.; CAMPECHE; L. F. S. M.; BLANCO; F. F. **Características químicas e salino-sodicidade dos solos do Perímetro Irrigado Califórnia-SE; Brasil.** *Ciência Rural*; v.37; n.6; p.1640-1645; 2007.
- AGUIAR; N. O.; MEDICI; L. O.; OLIVARES; F. S.; DOBBS; L. B.; TORRES-NETTO; A.; SILVA; S. F.; NOVOTNY; E. H.; CANELLAS; L. P. Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophytic diazotrophic bacteria. *Ann. Appl. Biol.*; 168(2): 203-213; 2016.
- Aldridge, C. et al. Protein transport in organelles: protein transport into and across the thylakoid membrane. *FEBS J.* 276, 1177–1186; 2009.
- ALGUACIL; M.M.; HERNÁNDEZ; J.A.; CARAVACA; F.; PORTILLO; B. & ROLDÁN; A. Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. *Physiol. Plant.*; 118:562-570; 2003.
- ALLEN, J.F.; PAULA, W. B. M. de; PUTHIYAVEETIL, S.; NIELD, J. A structural phylogenetic map for chloroplast photosynthesis. *Trends in Plant Science*; vol.16; n.12; DOI:10.1016/j.tplants.2011.10.004; 2011.
- AMINIFARD; M. H.; AROIEE; H.; NEMATI; H.; AZIZI; M.; HAWA; Z.; JAAFAR; E. Fulvic acid affects pepper antioxidant activity and fruit quality. *African Journal of Biotechnology*; v. 11; n. 68; p. 13179–13185. 2012.
- Aquastat –FAO.2010.Disponível em: <http://www.fao.org/nr/water/aquastat/main/index.stm>.
- ARANCON; N. Q.; EDWARDS; C. A.; LEE; S.; BYRNE; R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. *Eur. J. Soil Biol.*; 42: 65-69; 2006.
- Archibald, J.M. (2006) Algal genomics: exploring the imprint of endosymbiosis. *Curr. Biol.* 16, R1033–R1035
- ARFAOUI; A.; EL HADRAMI; A.; MABROUK; Y.; SIFI; B.; BOUDABOUS; A.; EL HADRAMI; I.; DAAYF; F. & CHÉRIF; M. Treatment of chickpea with *Rhizobium* isolates enhances the expression of phenylpropanoid defense-related genes in response to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Physiol. Biochem.*; 45:470-479; 2007.

ASGHARI; H.; MARSCHNER; P.; SMITH; S. & SMITH; F. Growth response of *Atriplex nummularia* to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi at different salinity levels. *Plant Soil*; 273:245-256; 2005.

ASH; C. et al. **Feeding the future**. *Science*; v.327; p.797; 2010.

ASLI; S.; NEUMANN; P. M. Rhizosphere humic acid interacts with root cell walls to reduce hydraulic conductivity and plant development. *Plant and Soil*; v. 336; n. 1; p. 313–322; 2010.

AZEVEDO NETO; A. D.; PRISCO; J. Y.; ENÉAS-FILHO; J.; LACERDA; C. F.; SILVA; J. V.; COSTA; P. H. A.; GOMES-FILHO; E. **Effects of salt stress on plants growth; stomatal response and solute accumulation of diferente maize genotypes**. *Brazilian Journal of Plant Physiology*; v. 16; p. 31-38; 2004.

Baldotto MA & Baldotto LEB (2014). **Ácidos Húmicos**. *Revista Ceres*; Viçosa; 61: 856-881. <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201461000011>.

Barkan, A. Expression of plastid genes: organelle-specific elaborations on a prokaryotic scaffold. *Plant Physiol.* 155, 1520–1532; 2011.

BAYER; C.; MIELNICZUK; J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS; G. A.; SILVA; L. S.; CANELLAS; L. P.; CAMARGO; F. A. O. *Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais*. 2. ed. Porto Alegre: Metrópole; 2008. p. 7-18.

BEFROZ FAR; M. R.; HABIBI; D.; ASGHARZADEH; A.; SADEGHI; M.; TOOKALLOO; M. R. Vermicompost; plant growth promoting bacteria and humic acid can affect the growth and essence of basil (*Ocimum basilicum L.*). *Scholars Research Library*; v. 4; n. 2; p. 8–12; 2013.

Benner BL; Bazzaz FA (1985) Response of the annual *Abutilon theophrasti* Medic. (Malvaceae) to timing of nutrient availability. *Am J Bot* 2:320–23.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A. de; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Ed.). *Nutrição mineral de plantas*. Viçosa, MG: SBCS, 2006. p. 53-88.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. III - Fungos Micorrízicos Arbusculares: Book, v. Cap III, n. 54–80, p. 432, 2006.

BERBARA, R.L.L.; GARCÍA, A.C. Humic substances and plant defense metabolism. In: AHMAD, P.; WANI, M.R. *Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment*. Springer Science+Business Media: New York, 2014. p.297-319.

BHANDAL, I.S.; MALIK, C.P. Potassium estimation, uptake and its role in the physiology and metabolism of flowering plants. *Int. Rev. Cytol.*, 110-205-254. 1988. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61851-3](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61851-3)

BINET MN; TUINEN VD; DEPRÊTRE N; KOSZELA N; CHAMBON C; GIANIAZZI S. 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Artemisia umbelliformis* Lam, an endangered aromatic species in Southern French Alps, influence plant P and essential oil contents. *Mycorrhiza*21: 523-535.

Black KG; Mitchell DT; Osborne BA (2000) Effect of mycorrhizal enhanced leaf phosphate status on carbon partitioning; translocation and photosynthesis in cucumber. *Plant Cell Environ* 8:797–809.

BLANCHET; R. M. The direct and indirect effect of humified; organic matter on the nutrition of vascular plants. *Ann Agron.* 9:499-532; 1958.

Blumwald; E.; Aharon; G.S.; Aspe; M.P.: Sodium transport in plant cells. - *Biochim. biophys. Acta* 1465: 140-151; 2000.

Boominathan; P.; R. Shukla; K. Kumar; D. Manna; D. Negi; P.K. Verma and D. Chattopadhyay; 2004. Long term transcript accumulation during the development of dehydration adaptation in *Cicer arietinum*. *Plant Physiol.*; 135: 1608–1620

Bock, R. and Timmis, J.N. (2008) Reconstructing evolution: gene transfer from plastids to the nucleus. *Bioessays* 30, 556–566

BORDE; M.; DUHRANE; M. & JITE; P. Growth photosynthetic activity and antioxidant responses of mycorrhizal and nonmycorrhizal bajra (*Pennisetum glaucum*) crop under salinity stress condition. *Crop Protec.*; 30:265-271; 2011.

BRAHMAPRAKASH; G. P.; SAHU; P. K. **Biofertilizers for sustainability.** *Journal of the Indian Institute of Science.* v. 92; n. 1; p. 37-62; 2012.

BRAY; E.A. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci.*; 2:48-54; 1997.

Brussens; S.; K. Himanen; B. van de Cotte; T. Beeckman; M. Van Montagu; D. Inze and N. Verbruggen; 2000. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*; 211: 98–104

Cachorro; P.; Martinez; R.; Ortiz; A.; Cerda; A.: Abscisic acid and osmotic relations in *Phaseolus vulgaris* L. under saline conditions. - *Plant Sci.* 95: 29-32; 1995.

Canellas LP; Olivares FL; Okorokova-Facanha AL & Facanha AR (2002) **Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation; lateral root emergence; and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots.** *Plant Physiology*; 130:1951-1957.

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; JONES, D. L.; NEBBIOSO, A.; MAZZEI, P.; PICCOLO, A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 15–27, 2015.

CANELLAS; L. P.; BALMORI; D. M.; MÉDICI; L. O.; AGUIAR; N. O.; CAMPOSTRINI; E.; ROSA; R. C. C.; FAÇANHA; A. R.; OLIVARES; F. L. **A combination of humic substances and *Herbaspirillum seropedicae* inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.).** *Plant and Soil*; v.366; p. 119–132; 2013.

CANELLAS; L. P.; FAÇANHA; A. R. **Chemical nature of soil humified fractions and their bioactivity.** *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*; v. 39; n. 3; p. 233–240; 2004.

CANELLAS; L. P.; OLIVARES; F. L.; AGUIAR; N. O.; JONES; D. L.; NEBBIOSO; A.; MAZZEI; P.; PICCOLO; A. **Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture.** *Scientia Horticulturae*; v. 196; p. 15–27; 2015.

CANELLAS; L. P.; OLIVARES; F. L.; AGUIAR; N. O.; JONES; D. L.; NEBBIOSO; A.; MAZZEI; P.; PICCOLO; A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Sci. Horitc.*; 196: 15-27; 2015.

CARDOSO; E. J. B. N; TSAI; S. M.; NEVES; M. C. P. In: *Microbiologia do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; Campinas; 1992.

CARRER; H.; BARBOSA; A. L.; RAMIRO; D. A. **Biotecnologia na Agricultura.** *Estudos Avançados* 24(70); 2010.

CAVALCANTE; L. F. et al. **Fontes e níveis da salinidade da água na formação de mudas de mamoeiro cv. Sunrise solo.** *Semina: Ciências Agrárias*; v.31; p.12811290; 2010.

CAVICHIOLO; S. R. **Perdas de Solo e Nutrientes por Erosão Hídrica em diferentes Métodos de Preparo do Solo em Plantio de *Pinus taeda*.** Universidade Federal do Paraná; Curitiba; 2005; 139p. Tese de Doutorado.

CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. PIB Agro CEPEA-ESALQ/USP; out/ 2019. Disponível em: <http://www.cepea.esalq.usp.br/pib/>. Acesso em: 01/12/2019.

Cerda; A.; Pardines; J.; Botella; M.A.; Martinez; V.: Effect of potassium on growth; water relations; and the organic solute contents for two maize grown under saline conditions. - *J. Plant Nutr.* 18: 839-851; 1995.

CHAKRABORTY; A.; CHAKRABORTY; K.; GHOSH; S. Effect of long-term fertilizers and manure application on microbial biomass and microbial activity of a tropical agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils*; v. 47; p. 227-253; 2011.

CHEN J; LEBOEUF EJ; DAI S; BA G. Fluorescence spectroscopic studies of natural organicmatter fractions. *Chemosphere* 50:639–647. 2003.

CHEN Y & AVAID T (1990) Effects of humic substances on plant growth. In: Maccarthy P;Capp CE; Malcolm RL & Bloom PR (Eds.) **Humic substances in soil and crop sciences: selected readings.** Madison; American Society of America. p.161-186.

Chen Y; Clapp CE & Magen H (2004) **Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complexes.** *Plant Nutrition and Soil Scienc*: 1089-1095.

CHEN; Y.; DE NOBILI; M.; AVIAD; T. Stimulatory effects of humic. In: MAGDOFF; F.; WEIL; R. R. Editors. *Soil organic matter in sustainable agriculture*. Boca Raton: CRC Press; 2004. p.103-129. <http://dx.doi.org/10.1201/9780203496374.ch4>.

CIA; M. C.; GUIMARÃES; A. C. R.; MEDICI; L. O.; CHABREGAS; S. M.; AZEVEDO; R. A. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and –sensitive sugarcane varieties. *Ann. Appl. Biol.*; 161: 313-324; 2012

COLLA; G.; ROUPHAEL; Y.; CARDARELLI; M.; TULLIO; M.; RIVERA; C.M. & REA; E. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biol. Fert. Soils*; 44:501-509; 2008.

Cornic; G.: Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture – not by affecting ATP synthesis. - *Trends Plant Sci.* 5: 187-188; 2000.

COSTA; M.D. & LOVATO; P.E. Micorrizas arbusculares e a supressão de patógenos. In: KLAUBERG-FILHO; O.; MAFRA; A.L. & GATIBONI; L.C.; eds. *Tópicos em ciência do solo*. Viçosa; MG; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo; v. 6 ; 2011. p.119-139.

Cui KH; Peng SB; Xing YZ; et al. (2003) Molecular dissection of the genetic relationships of source; sink and transport tissue with yield traits in rice. *Theor Appl Genet* 4:649–58.

CUNHA; T. J. F. Ácidos húmicos de solos escuros da Amazônia (Terra Preta do Índio). 2005. 118 f. Tese de Doutorado; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2005.

DA SILVA; M. A. C.; DOS SANTOS; W. O.; SIMOURA; N. T.; TESCH; J. A.; RUAS; K. F.; COLODETE; C. M.; TANNURE; F. P.; DE OLIVEIRA BARBIRATO; J.; RAMOS; A. C.; DOBBS; L. B. **Ácidos húmicos de vermicomposto estimulam o crescimento in vitro de plântulas de *Cattleya warneri* (Orchidaceae)**. *Rodriguésia*; v. 66; n. 3; p. 759–768; 2015.

DALIAKOPOULOS; I. N.; TSANIS; I. K.; KOUTROULIS; A.; KOURGIALAS; N. N.; VAROUCHAKIS; A. E.; KARATZAS; G. P.; RITSEMA; C. J. The threat of soil salinity: A European Scale Review. *Sci. Total Environ.*; 573: 727-739; 2016.

DE GARA; L.; PINTO; M.C. & TOMMASI; F. The antioxidant systems vis-a-vis reactive oxygen species during plantpathogen interaction. *Plant Physiol. Biochem.*; 41:863870; 2003.

DEL RÍO; L.A.; SANDALIO; L.M.; CORPAS; F.J.; PALMA; J.M. & BARROSO; J.B. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes: Production; scavenging; and role in cell signaling. *Physiol. Plant.*; 141:330-335; 2006.

DEMIR, K., GÜNES, A., INAL, A.; ALPASLAN, M. Effects of humic acids on the yield and mineral nutrition of cucumber (*Cucumis sativus L.*) Grown with different salinity levels. *Acta Horti*, v.492, p.95-104, 1999.

DIAS; J. P. T. **Ecofisiologia de Culturas Agrícolas**. Universidade do Estado de Minas Gerais; Belo Horizonte. 169p. ISBN 978-85-5478-015-9; 2018.

DIAS; N. D. S. et al. **Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade**. In: GHEY; H. R. et al. (Eds.). *Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados*. 2a ed. Fortaleza: INCTSal; 2016. p. 504.

DIAS; N. S.; BLANCO; F. F. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Salinidade. ISBN:978-85-7563-489-9; 472p.; 2010.

DÍAZ-LÓPEZ; L.; GIRMENO; V.; LIDÓN; V.; SIMÓN; I.; MARTÍNEZ; V.; GARCÍA-SÁNCHEZ; F. To tolerance of *Jathopa curcas* seedlings to NaCl: An ecophysiological analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*; v.54; p.34-42; 2012.

DOBBSS, L. B.; CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; AGUIAR, N. O.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, M.; SPACCINI, R.; PICCOLO, A.; FAÇANHA, A. R. Bioactivity of chemically transformed humic matter from vermicompost on plant root growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 6, p. 3681–3688, 2010.

DOBBSS, L. B.; RUMJANECK, V. M.; BALDOTTO, M. A.; VELLOSO, A. C. X.; CANELLAS, L. P. Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros. *Rev. Bras. Ci. Solo*, v. 33, n. 1, p. 51–63, 2009.

DOBBSS; L. B.; BARROSO; A. L. P.; RAMOS; A. C.; TORRICO; K. S. N.; ARÇARI; F. S. S.; ZANDONADI; D. B. Bioactivity of mangrove humic material on *Rizophora mangle* and *Laguncularia racemosa* seedlings; Brazil. *Afr. J. Biotechnol.*; 15(23): 1168- 1176; 2016.

DOBBSS; L. B.; MEDICI; L. O.; PERES; L. E. P.; PINO NUNES; L.E.; RUMJANEK; V. M.; FAÇANHA; A. R.; CANELLAS; L. P. Changes in root development of *Arabidopsis* promoted by organic matter from oxisols. *Ann Appl Biol.* 151 (2):199-211; 2007.

DOMINGUES; E. P.; MAGALHÃES; A. S. & RUIZ; R. M. 2011. **Cenário de mudanças climáticas e agricultura no Brasil: impactos econômicos na Região Nordeste.** *Revista de Economia do Nordeste*; 42(2): 229-246.

DU JARDIN; P. **Plant biostimulants: Definition; concept; main categories and regulation.** *Scientia Horticulturae*; v. 196; p. 3–14; 2015.

DUARTE; H. F. H.; SOUZA; E. R. DE. **Soil Water Potentials and Capsicum annum L. under Salinity.** *Revista Brasileira de Ciência do solo*; v. 40; p. 1-11; 2016. DOI: 10.1590/18069657rbc20150220

EGLI; M.; ALIOTH; L.; MIRABELLA; A.; RAIMONDI; S.; NATER; M.; VEREL; R. Effect of Climate and Vegetation on Soil Organic Carbon; Humus Fractions; Allophanes; Imogolite; Kaolinite; and Oxyhydroxides in Volcanic Soils of Etna (Sicily). *Soil Science*; v. 172; n. 9; p. 673–691; 2007.

ELGALA; A. M.; METWALLY; A. L.; KHALIL; R. A. The effect of humic acid and Na<sub>2</sub>EDDHA on the uptake of Cu; Fe; and Zn by barley in sand culture. *Plant Soil.* 49(1):41-8; 1978.

EL-KHALLAL; S.M. Induction and modulation of resistance in tomato plants against *Fusarium* wilt disease by bioagent fungi (arbuscular mycorrhiza) and/or hormonal elicitors (jasmonic acid and salicylic acid): 2-changes in the antioxidant enzymes; phenolic compounds and pathogen related-proteins. *Austr. J. Basic Appl. Sci.*; 1:717-732; 2007.

EL-KHATEEB, M. A.; EL-LEITHY, A. S.; ALJEMAA, B. A. Effect of Mycorrhizal Fungi Inoculation and Humic Acid on Vegetative Growth and Chemical Composition of *Acacia*

saligna Labill. Seedlings under Different Irrigation Intervals. Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants, v. 3, n. 3, p. 283–289, 2011.

FAÇANHA.A; R; FAÇANHA; A.L.O; OLIVARES; F.L; GURIDI; F.; SANTOS; G.D.A; VELLOSO; A.C.X; RUMJANEK; V.M; BRASIL.; F; SCHRIPSEMA; J; BRAZ-FILHO R; DE OLIVEIRA M.A; CANELLAS; L.P. **Bioatividade de ácidos húmicos: Efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática.** Pesquisa Agropecuaria Brasileira; v. 37; n. 9; p. 1301–1310; 2002.

FAÇANHA.A; R; FAÇANHA; A.L.O; OLIVARES; F.L; GURIDI; F.; SANTOS; G.D.A; VELLOSO; A.C.X; RUMJANEK; V.M; BRASIL.; F; SCHRIPSEMA; J; BRAZ-FILHO R; DE OLIVEIRA M.A; CANELLAS; L.P. **Bioatividade de ácidos húmicos: Efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática.** Pesquisa Agropecuaria Brasileira; v. 37; n. 9; p. 1301–1310; 2002.

FAGÉRIA; N. K. **Resposta de Arroz de Terras Altas; Feijão; Milho e Soja à saturação por base em solo de cerrado.** Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental; v.5; n.3; p. 416-424; 2001. Campina Grande; DEAg/UFPB.

FAO. 2010. disponível em: <<http://www.fao.org>>.

FAO. 2013. disponível em: <<http://www.fao.org>>.

FAO. 2015. disponível em: <<http://www.fao.org>>.

FERREIRA; P. A.; SILVA; J. B. L.; RUIZ; H. A. **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados.** Fortaleza: Aspectos físicos e químicos de solos em regiões áridas e semiáridas; 2010.

FERREIRA; R. G.; et al. **Distribuição da matéria seca e composição química das raízes; caule e folhas de goiabeira submetida a estresse salino.** Pesquisa Agropecuária Brasileira; v. 36; n. 1; p. 79-88; 2001.

FERREIRA-SILVA; S.L.; SILVEIRA; J.A.G.; VOIGT; E.L.; SOARES; L.S.P.; VIÉGAS; R.A. Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal; v.20; p.51-59; 2008.

FIGUEIRÊDO; A. F. R. **Análise do risco de salinização dos solos da Bacia hidrográfica do Rio Colônia – Sul da Bahia.** Universidade Estadual de Santa Cruz; Ilhéus; BA; 2005. 84p. Dissertação de Mestrado.

FLANDRIN; J. L.; MONTANARI; M. (Dir.). **História da alimentação.** São Paulo: Estação Liberdade; 1998.

FOLLI-PEREIRA; M. S.; MEIRA-HADDAD; L. S'.A.; BAZZOLLI; D. M. S.; KASUYA; M. C. M. Micorriza Arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. R. Bras. Ci. Solo; 36: 1663-1679; 2012.

FONTANA; A. Caracterização Química e Espectroscópica da Matéria Orgânica em Solos do Brasil. Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em

Ciências; no Curso de Pós-Graduação em Agronomia; Área de Concentração em Ciência do Solo; p. 60; 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. International year of rice. 2004. Disponível em: <http://www.fao.org/rice2004/en/rice-us.htm>

Fortunel C; Fine PVA; Baraloto C; et al. (2012) Leaf; stem and root tissue strategies across 758 Neotropical tree species. *Funct Ecol* 5:1153–61.

GAMA-RODRIGUES; E. F.; GAMA-RODRIGUES; A. C. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS; G. A.; SILVA; L. S.; CANELLAS; L.P.; CAMARGO; F. A. O. Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. 2. ed. Porto Alegre: Metropole; 2008. p. 159-170.

GARCÍA, A. C.; SANTOS, L. A.; IZQUIERDO, F. G.; SPERANDIO, M. V. L.; CASTRO, R. N.; BERBARA, R. L. L. Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress. *Ecological Engineering*, v. 47, p. 203–208, 2012b.

GARCÍA, A.; BERBARA, R.; FARÍAS, L.; IZQUIERDO, F.; HERNÁNDEZ, O.; CAMPOS, R.; CASTRO, R. Humic acids of vermicompost as an ecological pathway to increase resistance of rice seedlings to water stress. *African Journal of Biotechnology*, v. 11, n. 13, p. 3125–3134, 2012a.

GARCIA, A.; SANTOS, L. A.; IZQUIERDO, F. G.; RUMJANEK, V. M.; CASTRO, R. N.; DOS SANTOS, F. S.; DE SOUZA, L. G. A.; BERBARA, R. L. L. Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa L.*). *Journal of Geochemical Exploration*, v. 136, p. 48–54, 2014.

GARCÍA; A. C.; SANTOS; L. A.; SOUZA; L. G. A.; TAVARES; O. C. H.; GOMES; E. T. M.; GARCÍA-MINA; J. M.; BERBARA; R. L. L. Vermicompost humic acids modulate the accumulation and metabolism of ROS in rice plants. *J. Plant Physiol.* 192:56-63; 2016b.

GARCÍA; A. C.; SOUZA; L. G.; PEREIRA; M. G.; CASTRO; R. N.; GARCÍA-MINA; J. M.; ZONTA; E.; LISBOA; F. J.; BERBARA; R. L. L. Structure-property-function relationship in humic substances to explain the biological activity in plants. *Sci Rep.* 6(1):20798; 2016a.

GARCÍA; A. C.; TAVARES; O. C. H.; BALMORI; D. M.; SANTOS ALMEIDA; V.; CANELLAS; L. P.; GARCÍA-MINA; J.; BERBARA; R. L. L. Structure-function relationship of vermicompost humic fractions for use in agriculture. *J. Soils Sediments.* 18(4):1209-11; 2018.

GARCÍA; A.C.; QUINTERO; P.; JAVIER; J.; BALMORI; M.; LÓPEZ; H.; IZQUIERDO; G. **Effects of a humic liquid extract obtained from vermicompost on growing and yield corn.** *Revista Ciências Técnicas Agropecuarias*; v. 25; n. 1; p. 38–43; 2016c.

GARCIA-GARRIDO; J.M. & OCAMPO; J.A. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *J. Exper. Bot.*; 53:1377-1386; 2002.



GARCÍA-MINA; J. M.; ANTOLÍN; M. C.; SANCHEZ-DIAZ; M. Metal-humic complexes and plant micronutrient uptake: A study based on different plant species cultivated in diverse soil types. *Plant and Soil*; v. 258; n. 1-2; p. 57–68; 2004.

GASPARETTO; E. C.; BRAIDA; J. A.; CARNEIRO; M.; SCARIOT; J. J.; TABOLKA; C. L. **Grau de Flocculação da Argila de um Latossolo Vermelho utilizado com Lavoura e Mata Nativa.** *Synergismus Scyentifica*; v.04; n.1; 2009.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*, v.84, n.3, p.484-500, 1980.

GIRI; B.; KAPOOR; R. & MUKERJI; K.G. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza; *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microbial Ecol.*; 54:753-760; 2007.

GLOAGUEN; T. V.; PEREIRA; F. A. C.; GONÇALVES; R. A. B.; PAZ; V. S. **Composição Química da Solução do Solo nas Diferentes Classes de Poro do Solo.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*; v.33; p.1105-1113; 2009.

Gould, S.B. et al. (2008) Plastid evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 491–517

Gonçalves, J. F.C., Silva, C. E. M., & Guimarães, D. G. (2009). Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 44(1), 8-14.

GONDIN; R.S.; EVANGELISTA; R. S M.; MAIA; A. H. N. & DUARTE; A. S. 2017. **Climate change impacts on water demand of melon plants in Jaguaribe-Apodi Region; Brazil.** *Jornal of Brazilian Association of Agricultural Engineer*; 37(3): 591 – 602.

Gosling P; Hodge A; Goodlass G; et al. (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agric Ecosyst Environ* 1–4:17–35.

Gowda; V.R.P.; A. Henry; A. Yamauchi; H.E. Shashidhar and R. Serraj; 2011. Root biology and genetic improvement for drought avoidance in rice. *Field Crops Res.*; 122: 1–13

Green, B.R. Chloroplast genomes of photosynthetic eukaryotes. *Plant J.* 66, 34–44; 2011.

GRYNDLER; M.; HRŠELOVÁ; H.; SUDO VÁ; R.; GRYNDLEROVÁ; H.; ŘEZÁČOVÁ; V.; MERHAUTOVÁ; V. **Hyphal growth and mycorrhiza formation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum* BEG 23 is stimulated by humic substances.** *Mycorrhiza*; v. 15; n. 7; p. 483–488; 14 Nov. 2005.

Gu; D.; F. Zhen; D.B. Hannaway; Y. Zhu; L. Liu; W. Cao and L. Tang; 2017. Quantitative classification of rice (*Oryza sativa* L.) root length and diameter using image analysis. *PloS One*; 12: e0169968

GUMINSKI; S. Present-day views on physiological effects induced in plant organisms by humic compounds. *Soviet Soil Science-USSR.* 9:1250; 1968.

HABTE, M.; FOX, R.L.; HUANG, R.S. Determining vesicular-arbuscular mycorrhizal effectiveness by monitoring P status of subleaflets of an indicator plant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, New York, v. 18, n.12, p.1403-1420, Dec. 1987.

HABTE, M. Usefulness of the pinnule technique in mycorrhizal research. In: NORRIS, J. R.; READ, D. J.; VARMA, A.K. (eds) *Methods in microbiology*. Volume 24 techniques for the study of mycorrhiza. San Diego: Academic Press, 17:323-338, 1992.433p.

HAGER; A. Role of the plasma membrane H<sup>+</sup> -ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects. *J. Plant. Res.*; 116: 483-505; 2003.

HAJIBOLAND; R.; ALIASGHARZADEH; A.; LAIEGH; S.F. & POSCHENRIEDER; C. Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improve salinity tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Plant Soil*; 331:313327; 2010.

HASEGAWA; P.M.; BRESSAN; R.A.; ZHU; J.K. & BOHNERT; H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann. Rev. Plant Physiol.*; 51:463-499; 2000.

HASEGAWA; P.M.; BRESSAN; R.A.; ZHU; J.-K.; BOHNERT; H.J.: Plant cellular and molecular responses to high salinity. - *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant mol. Biol.* 51: 463-499; 2000.

HAYES; M.H.B. Emerging concepts of the compositions and structure of humic substances. In: Hayes; M.H.B.; Wilson; W.S. (Eds.); *Humic Substances in Soils*. 1997.

He; X.J.; R.L. Mu; W.H. Cao; Z.G. Zhang; J.S. Zhang and S.Y. Chen; 2005. AtNAC2; a transcription factor downstream of ethylene and auxin signaling pathways; is involved in salt stress response and lateral root development. *Plant J.*; 44: 903–916

HE; Z.; HE; C.; ZHANG; Z.; ZOU; Z. & WANG; H. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloid. Surface. B.*; 59:128-133; 2007.

HERNANDEZ; O. L.; HUELVA; R.; GURIDI; F.; OLIVARES; F. L.; CANELLAS; L. P. Humatos isolados de vermicomposto como promotores de crescimento em cultivo orgânico de alface. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*; v. 22; n. 1; p. 70–75; 2013

HERNANDO; V.; ORTEGA; B. C.; FORTUN; C. Study of the action of two types of humic acid on the maize plant. Oxford: Pergamon Press; 1977. (*Soil Organic Matter Studies*; n°2).

HINCHA; D.K. & HAGEMANN; M. Stabilization of model membranes during drying by compatible solutes involved in the stress tolerance of plants and microorganisms. *Biochem. J.*; 383:277-283; 2004.

HOLANDA; J. S. et al. **Qualidade da água para irrigação**. In: GHEY; H. R. et al. Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados. 2a ed. Fortaleza: INCTSal; 2016. 504 p.

JAHROMI; F.; AROCA; R.; PORCEL; R. & RUIZ-LOZANO; J.M. Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus intraradices* and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. *Microbial Ecol.*; 55:45-53; 2008.

- JANMOHAMMADI; M.; ABBASI; A; SABAGHNIA; N. **Influence of NaCl treatments on growth and biochemical parameters of castor bean (*Ricinus communis* L.).** Acta Agriculturae Slovenica; v 99; p. 31-40; 2012.
- JANNIN, L., ARKOUN, M., OURLY, A., LAÏNÉ, P., GOUX, D., GARNICA, M., FUENTES, M., SAN FRANCISCO, S., BAIGORRI, R., CRUZ, F., HOUDUSSE, F., GARCIA-MINA, J.M., YVIN, J.C.; ETIENNE, P.: “Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: involvement of N, C and S metabolisms”. *Plant Soil*, p. 297–319, 2012.
- JANSA; J.; MOZAFAR; A.; KUHN; G.; ANKEN; T.; RUH; R.; SANDERS; I. R.; FROSSARD; E. **Soil tillage affects the community structure of mycorrhizal fungi in maize roots.** *Ecological Applications*; v. 13; n. 4; p. 1164–1176; 2003.
- JOHNSON; N.C.; GRAHAM; J.H. & SMITH; F.A. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism– parasitism continuum. *New Phytol.*; 135:575-585; 1997.
- JULIANO; B. O. **Rice in human nutrition.** Rome. FAO; 1993. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/t0567e/T05> . Acesso em: 29 mai. 2015.67E00.htm#Contents. Acesso em: 12/11/2019.
- Julkowska; M.M.; H.C.J. Hoefsloot; S. Mol; R. Feron; G.J. de Boer; M.A. Haring and C. Testerink; 2014. Capturing arabidopsis root architecture dynamics with root-fit reveals diversity in responses to salinity. *Plant Physiol.*; 166: 1387–1402
- JUNIPER; S. & ABBOTT; L.K. Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*; 16:371-379; 2006.
- KAFKAS; S. & ORTAS; I. Various mycorrhizal fungi enhance dry weights; P and Zn uptake of four *Pistacia* species. *J. Plant Nutr.*; 32:146-159; 2009.
- Kahiluoto H; Ketoja E; Vestberg M (2000) Promotion of utilization of arbuscular mycorrhiza through reduced P fertilization 1. Bioassays in a growth chamber. *Plant Soil* 1–2:191–206.
- Kawada; S.; 1984. *Root System of Rice.* Agriculture Press; Beijing; China
- KISHOR; P.B.; HONG; Z.; MIAO; G.H.; HU; C.A. & VERMA; D.P.S. Over expression OF D1-pyrroline-5-carboxilate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiol.*; 108:1387-94; 1995.
- Kleczewski NM; Herms DA; Bonello P (2010) Effects of soil type; fertilization and drought on carbon allocation to root growth and partitioning between secondary metabolism and ectomycorrhizae of *Betula papyrifera*. *Tree Physiol* 7:807–17.
- KONONOVA; M. M. Soil organic matter. Its nature; its role in soil formation and in soil fertility. Oxford: Pergamon; 544. 32. 1966.
- Krishnamurthy; P.; R. Kosala; N. Shraddha; S. Lukas and M.K. Mathew; 2011. Root apoplastic barriers block Na<sup>+</sup> transport to shoots in rice (*Oryza sativa* L.) *J. Exp. Bot.*; 62: 4215–4228
- LABRADOR; J. Avances en el conocimiento de la dinámica de la Materia Orgánica dentro de un contexto agroecológico. *Agroecologia*; v.7; p.91-108; 2012.

LACERDA; N.B. & OLIVEIRA; S.T. 2007. **Agricultura irrigada e a qualidade de vida dos agricultores em perímetros do Estado do Ceará, Brasil.** Revista Ciência Agrônômica; 38(2): 216 – 223.

LAMBAIS; M.R.; RÍOS-RUIZ; W.F. & ANDRADE; R.M. Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*; 160:421-428; 2003.

LARCHER; W. **Ecofisiologia vegetal.** São Carlos; SP: RIMA; 2004; p. 531.

LAUCHI; A.; EPSTEIN; E. **Mechanisms of salt tolerance in plants.** California Agriculture; v.38; n.10; p.18-21; 1984.

Li H; Ye ZH; Chan WF; et al. (2011) Can arbuscular mycorrhizal fungi improve grain yield; As uptake and tolerance of rice grown under aerobic conditions? *Environ Pollut* 10:2537–45.

LIMA; L. W. **Metabolismo do Nitrogênio e Atividade de Bombas de Prótons em Raízes Transgênicas com Ácido Húmico e Simbiose Micorrízica Arbuscular.** Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências; no Curso de Pós-Graduação em Agronomia; Área de Concentração em Ciência do Solo. p. 153; 2008.

LÓPEZ-BUCIO, J; CRUZ-RAMÍREZ, A; HERRERA-ESTRELLA, L. (2003) The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr Opin Plant Biol* 3:280–7

LUGAY J; JULIANO B. Fatty acid composition of rice lipids by Gas-liquid Chromatography. *J Am Oil Chem Soc* 41(4):273–275; 1964.

Maier, U.G. et al. Complex chloroplast RNA metabolism: just debugging the genetic programme? *BMC Biol.* 6, 9; 2008.

MALCOLM; R. L.; BLOOM; P. R. (Eds.) **Humic substances in soil and crop sciences: selected readings.** American Society of Agronomy/Soil Science Society of America; Madison/Wisconsin; p.161-186; 1990.

MARSCHNER; H. **Mineral Nutrition of Higher Plants.** London: Academic Press. 1995. Em: LIMA; L.W. **Metabolismo do Nitrogênio e Atividade de Bombas de Prótons em Raízes Transgênicas com Ácido Húmico e Simbiose Micorrízica Arbuscular.** Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências; no Curso de Pós-Graduação em Agronomia; Área de Concentração em Ciência do Solo. p. 153; 2008.

Martin, W. et al. (2002) Evolutionary analysis of Arabidopsis, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 12246–12251

MATAMOROS; M.A.; DALTON; D.A.; RAMOS; J.; CLEMENTE; M.R.; RUBIO; M.C. & BACANA; M. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis. *Plant Physiol.*; 133:499-509; 2006.

McConnaughay KDM; Coleman JS (1999) Biomass allocation in plants: ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology* 8:2581–93.

MEDEIROS; J. F.; LISBOA; R. A.; OLIVEIRA; M.; SILVA JÚNIOR; M. J.; ALVES; L. P. **Caracterização das águas subterrâneas usadas para irrigação na área produtora de melão da Chapada do Apodi.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental; v.7; n.3; p.469-472; 2003.

MEHTA P; ALLAKHVERDIEV S; JAJOO A (2010) Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Photosynth Res* 105:249–255

MELLONI; R; SILVA; F. A. M.; CARVALHO; J. G. **Cálcio; magnésio e potássio como amenizadores dos efeitos da salinidade sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*).** *Cerne*; v. 6; n. 2; p. 35-40. 2000.

MICHELON; C. J. **Qualidade física de solos irrigados do Rio Grande do Sul e do Brasil Central.** Universidade Federal de Santa Maria; Santa Maria; 2005. 92p. Dissertação de Mestrado.

MIRANDA; J. R. P.; et al. **Silício e cloreto de sódio na nutrição mineral e produção de matéria seca de plantas de Moringa (*Moringa oleifera* Lam.).** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*; v. 26; p. 957-965. 2002.

MØLLER IM; JENSEN PE; HANSSON A (2007) Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. *Annu Rev Plant Biol* 58:459–481

MORAIS; D.L.; VIÉGAS; R.A.; SILVA; L.M.M.; LIMA JR; A.R.; COSTA; R.C.L.; ROCHA; I.M.A.; SILVEIRA; J.A.G. **acumulação de íons e metabolismo de N em cajueiro anão em meio salino.** *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*; v.11; n.2; p.125-133; 2007.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Rizosfera.** In: MOREIRA, F.M.S; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo.* 2ª ed., Lavras: Editora UFLA, p. 449-542, 2006.

MOREIRA; F.M.S.; SIQUEIRA; J.O. *Microbiologia e bioquímica do solo.* 2. ed. Lavras: Editora UFLA; 2006.

MORSOMME; P. & BOUTRY; M. **The plant plasma membrane H<sup>+</sup> -ATPase: structure; function and regulation (Review).** *Biochim. Biophys.*; 1465: 1-16; 2000.

MUNKVOLD; L.; KJOLLER; R.; VESTBERG; M.; ROSENDAHL; S. & JAKOBSEN; I. **High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi.** *New Phytol.*; 164:357-364; 2004.

MUNNS; R. **Comparative physiology of salt and water stress.** *Plant Cell Environment*; v.25; p.239–250; 2002.

MUNNS; R. **Comparative physiology of salt and water stress.** *Plant; Cell and Environment*; v. 25; p. 239-250; 2002.

MUNNS; R.: **Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses.** - *Plant Cell Environ.* 16: 15-24; 1993.

MUNNS; R.; JAMES; R.A.; LÄUCHLI; A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*; n.57; p.1025-1043; 2006.

MUNNS; R.; TESTER; M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant. Biol.*; n.59; p.651–681; 2008.

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 27, p.31-36, 1962.

MUSCOLO; A.; SIDARI; M.; NARDI; S. **Humic substance: Relationship between structure and activity. deeper information suggests univocal findings.** *Journal of Geochemical Exploration*; v. 129; p. 57–63; 2013.

NABIL; M.; COUDERT; A. Effects of sodium chloride on growth; tissue elasticity and solute adjustment in two *Acacia nilotica* subspecies. *Physiology Plantarum*; v.93; p.217-224; 1995.

NANNIPIERI P; MUCCINI L & CIARDI C (1983) **Microbial biomass and enzyme activities: production and persistence.** *Soil Biology and Biochemistry*; 15:679-685.

NARDI S; PIZZEGHELLO D; MUSCOLO A & VIANELLO A (2002) **Physiological effects of humic substances on higher plants.** *Soil Biology and Biochemistry*; 34:1527-1536.

NASCIMENTO; J. A. M. et. al. **Efeito da utilização de biofertilizante bovino na produção de mudas de pimentão irrigadas com água salina.** *Revista Brasileira Ciências Agrárias*; v. 6; n. 2; p. 258-264; 2011.

NEWMAN, E.J. A method of estimating the total length of root sample. *Journal of Applied Ecology*, v.3, p.139-145, 1966.

NOBRE, C. P. Fungos Micorrízicos Arbusculares em Briófitas e Raízes Modificadas de Manjerição (*Ocimum basilicum* L.) in vitro. Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Ciência do Solo. p. 153, 2011.

NOBRE, C. P.; HUERTAS, O. C. T.; TARDIN, J. R. F.; JÚNIOR, O. J. S.; FONSECA, H. M. A. C.; BERBARA, R. L. L. Biostimulation of inoculation with *Glomus proliferum* and application of humic acid in the in vitro growth of *Lunularia cruciata*. *Acta Botanica Brasilica*, v. 27, n. 4, p. 773–778, 2013.

NOBRE; C. P.; HUERTAS; O. C. T.; TARDIN; J. R. F.; JÚNIOR; O. J. S.; FONSECA; H. M. A. C.; BERBARA; R. L. L. **Biostimulation of inoculation with *Glomus proliferum* and application of humic acid in the in vitro growth of *Lunularia cruciata*.** *Acta Botanica Brasilica*; v. 27; n. 4; p. 773–778; 2013.

NOSSE; T. O.; AQUINO; S. S.; CAZETTA; D. A.; ARF; ORIVALDO; CASSIOLATO; A. M. R. Restos vegetais e adubação nitrogenada na micorrização e produtividade do arroz de terras altas em sistema plantio direto. *Acta Sci. Agron.*; v. 30; n. 4; p. 547-553; 2008.

OKADA K; IKEUCHI M; YAMAMOTO N; ONO T; MIYAO M (1996) Selective and specific cleavage of the D1 and D2 proteins of photosystem II by exposure to singlet oxygen: factors responsible for the cleavage of proteins. *BBA* 1274:73–79

OLIVEIRA; J.A. & LANNA; A.E.L. 1997. **Otimização de um sistema de múltiplo reservatórios atendendo a múltiplos usos no Nordeste brasileiro.** Revista Brasileira de Recursos Hídricos; 2(2): 123-141.

OLIVEIRA; M. K. T. et. al. **Efeito de diferentes teores de esterco bovino e níveis de salinidade no crescimento inicial da mamoneira (*Ricinus communis*).** Revista Verde de Agroecologia e Agricultura Sustentável; v. 1; n. 1; p. 68-74; 2006.

OUESLATI; S.; KARRAY-BOURAOUI; N.; ATIA; H.; RABHI; M.; KSOURI; R.; LACHASAL; M. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiol Plant*; v.32; p.289-296; 2010.

PEREIRA; J. A. **Cultura do arroz no Brasil: subsídios para a sua história.** Teresina: Embrapa Meio-Norte; 2002.

PEREIRA; J. A.; MORAIS; O. P. de; CASTRO; E. da M. de. Melhoramento genético do arroz de sequeiro no Nordeste do Brasil. In: QUEIRÓZ; M. A. de; GOEDERT; C. O.; RAMOS; S. R. R. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o nordeste brasileiro. Petrolina; PE: Embrapa Semiárido; Brasília; DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 1999.

PICCOLO; A. **Differences in high performance size exclusion chromatography between humic substances and macromolecular polymers.** In: GHABBOUR; E. A.; DAVIES; G. (Eds.) Humic substances versatile components of plants; soil and water; Royal Society of Chemistry; Cornwall; p.1-124; 2000.

PINHEIRO; H.A.; SILVA; J.V.; ENDRES; L.; FERREIRA; V.M.; CÂMARA; C.A.; CABRAL; F.F.; OLIVEIRA; J.F.; CARVALHO; L.W. T.; SANTOS; J.M.; FILHO; B. G. Leaf gas exchange; chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L.) seedlings subjected to salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*; v.27; p.385-392; 2008.

PINOS; N. Q.; BERBARA; R. L. L.; ELIAS; S. S.; VAN TOL DE CASTRO; T. A.; GARCÍA; A. C. Combination of Humic Substances and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Affecting Corn Plant Growth. *Journal of Environmental Quality*; 2019.

PINOS; N. R. Q. **Influência das substâncias húmicas de três origens diferentes nos parâmetros morfológicos e bioquímicos da cultura de milho e na colonização micorrízica.** Tese (Doutorado em Ciência do Solo). Instituto de Agronomia; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica; 2018.

PONTES; A.G.V.; GADELHA; D.; FREITAS; B.M.C.; RIGOTTO; R.M. & FERREIRA; M.J.M. 2003. **Os perímetros irrigados como estratégia geopolítica para o desenvolvimento do semiárido e suas implicações à saúde; ao trabalho e ao ambiente.** *Ciênc. Saúde Coletiva*; 18(11): 3213-3222.

Poorter H; Nagel O (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light; CO<sub>2</sub>; nutrients and water: a quantitative review. *Funct Plant Biol* 6:595.

Poorter H; Niklas KJ; Reich PB; et al. (2012) Biomass allocation to leaves; stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytol* 1:30–50.

PUPIN; B. **Propriedades Microbiológicas do Solo Alteradas por Compactação.** Universidade Estadual Paulista; Jaboticabal; 2008. 61p. Dissertação de Mestrado.

Purakayastha TJ; Chhonkar PK (2001) Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus etunicatum* L.) on mobilization of zinc in wetland rice (*Oryza sativa* L.). *Biol Fertil Soils* 4:323–7.

RABIE; G.H. & ALMADINI; A.M. Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants. *Afr. J. Biotechnol.*; 4:210-222; 2005.

Raven, J.A. and Allen, J.F. (2003) Genomics and chloroplast evolution: what did cyanobacteria do for plants? *Genome Biol.* 4, 209

REBOUÇAS; A.D.C. 1997. **Água na região Nordeste: desperdício e escassez.** *Estudos Avançados.* 11(29):127 – 154.

Reynolds HL; D'Antonio C (1996) The ecological significance of plasticity in root weight ratio in response to nitrogen: opinion. *Plant Soil* 1:75–97.

RHOADES; J. D.; KANDIAH; A.; MASHALI; A. M. **Uso de águas salinas para produção agrícola.** Campina Grande: UFPB; 2000. 117p. *Estudos FAO Irrigação e Drenagem*; 48.

RIBEIRO; M. R. **Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados.** Fortaleza: Origem e classificação dos solos afetados por sais; 2010.

Robin; A.H.K. and P.S. Saha; 2015. Morphology of lateral roots of twelve rice cultivars of Bangladesh: dimension increase and diameter reduction in progressive root branching at the vegetative stage. *Plant Root*; 9: 34–42

ROCHA JC & ROSA AH (2003) **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas.** São Paulo; UNESP. 120p.

RODRÍGUEZ; E. S. et al. **Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants.** *Plant Science*; v. 178; n. 1; p. 30-40; 2010. DOI: 10.1016/j. plantsci.2009.10.001

Rogers; E.D.; D. Monaenkova; M. Mijar; A. Nori; D.I. Goldman and P.N. Benfey; 2016. X-ray computed tomography reveals the response of root system architecture to soil texture. *Plant Physiol.*; 171: 2028– 2040

ROSA; A. H.; ROCHA; J. C. Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. *Química Nova*; v. 23(4); p.472-476; 2003.

Rujan, T. and Martin, W. (2001) How many genes in *Arabidopsis* come from cyanobacteria? An estimate from 386 protein phylogenies. *Trends Genet.* 17, 113–120

SANCHEZ; E. **Propriedades físicas do solo e Produtividade de soja em sucessão a Plantas de cobertura de inverno.** Universidade Estadual do Centro-Oeste; Guarapuava; 2012. 48p. Dissertação de Mestrado.

SANTANA; M. J.; CARVALHO; J. A.; SOUZA; K. J.; SOUSA; A. M. G.; VASCONCELOS; C. L.; ANDRADE; L. A. B. **Efeitos da salinidade da água de irrigação na brotação e**



**desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) e em solos com diferentes níveis texturais.** Ciência Agrotecnica; v.31; n.5; p. 1470-1476; set./out.; 2007.

SANTANA; N. M. P. DE; SILVA; S. C. DA; STONE; L. F. **Analogia de riscos climáticos para a cultura do arroz de terras altas em dois sistemas de cultivo no Estado de Goiás.** In: BALBINO; L. C.; VIEIRA; E. H. N. (Ed.) Documentos 167; Anais 1ª Semana de Iniciação Científica da Embrapa Arroz e Feijão e XII Semana de Iniciação Científica da Universidade Federal de Goiás – UFG. 2004.

SANTOS; A. A. do E.; LIMA; J.S.; CARVALHO; G.C. de. **Técnicas de aplicação de composto orgânico; proveniente de resíduos urbanos domésticos; no desenvolvimento vegetal.** VI Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental 2002.

SANTOS; E. E. F.; RIBEIRO; M. R. Influência da irrigação e do cultivo nas propriedades químicas de solos da região do submédio São Francisco. Acta Scientiarum; v.24; n.5; p.1507-1516; 2002.

Schachtman; D.; Liu; W.: Molecular pieces to the puzzle of the interaction between potassium and sodium uptake in plants. - Trends Plant Sci. 4: 281-287; 1999.

Schmid B; Weiner J (1993) Plastic relationships between reproductive and vegetative mass in *Solidago altissima*. Evolution 1:61–74.

Schmitz-Linneweber, C. et al. The plastid chromosome of spinach (*Spinacia oleracea*): complete nucleotide sequence and gene organization. Plant Mol. Biol. 45, 307–315; 2001.

SCHNITZER; M. Humic substances: chemistry and reactions. In: SCHNITZER; M. and HAN; S. U. Soil organic matter. Elsevier; 1978.

SENESI; N.; LOFFREDO; E. The chemistry of soil organic matter. In: SPARKS; D.L. (Ed.) Soil physical chemistry; 2a ed. 409p. 1998. Em: FONTANA; 2009.

Shabala; S.; L. Shabala and E. Van Volkenburgh; 2003. Effect of calcium on root development and root ion fluxes in salinized barley seedlings. Funct. Plant Biol.; 30: 507–514

Shahzad; A.; M. Ahmad; M. Iqbal; I. Ahmed and G. Ali; 2012. Evaluation of wheat landrace genotypes for salinity tolerance at vegetative stage by using morphological and molecular markers. Gene. Mol. Res.; 11: 679–692.

Sharma, M.R. et al. Cryo-EM study of the spinach chloroplast ribosome reveals the structural and functional roles of plastid-specific ribosomal proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104, 19315–19320; 2007.

SHENG; M.; TANG; M.; CHEN; H.; YANG; B.; ZHANG; F. & HUANG; Y. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. Mycorrhiza; 18:287-296; 2008.

Shipley B; Meziane D (2002) The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. Funct Ecol 3:326–31.

SIEVERDING; E.; SAIF; S.R. VA mycorrhiza management: a new; low cost; biological technology for crop and pasture production on infertile soils. Palmira; Valle del Cauca: CIAT; 1984. (CIAT Annual Review; Série Discussion paper).

SILVA; A.C.; HORÁK; I.; VIDAL-TORRADO; P.; CORTIZAS; A.M.; RACEDO; J.R.; CAMPOS; J.R DA R. Turfeiras da serra do espinhaço meridional - MG. II - Influência da drenagem na composição elementar e Substâncias húmicas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*; v. 33; n. 5; p. 1399–1408; 2009.

SILVA; B. C. G.; MACIEL; L. N. Q.; ARAÚJO; M. S. B. **Limitações ao Cultivo em Áreas Irrigadas de Belém de São Francisco; Estado de Pernambuco; Brasil.** *Acta Scientiarum Agronomy*; v.27; n.2; p.343-347; 2005.

SILVA; E. N.; RIBEIRO; R. V.; FERREIRA SILVA; S. L.; VIÉGAS; R. A.; SILVEIRA; J. A. G. **Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis; water relations and growth of *Jatropha curcas* plants.** *Journal of Arid Environments*; v. 74; n. 10; p. 1130-1137; 2010. DOI: 10.1016/j.jaridenv.2010.05.036

SILVA; E.N.; SILVEIRA; J.A.G.; RODRIGUES; C.R.F.; LIMA; C.S.; VIÉGAS; R.A. Contribuição de solutos inorgânicos no ajustamento osmótico de pinhão-mansão submetido à salinidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*; v.44; n.5; p.437-445; 2009.

SILVA; F. A. M.; MELLONI; R.; MIRANDA; J. R. P.; CARVALHO; J. G. Efeito do estresse salino sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) cultivadas em solução nutritiva. *Revista Cerne*; v. 6; n. 1; p. 52-59; 2000.

SILVA; M. S. L.; CHAVES; V. C.; CAVALCANTI; A. C.; OLIVEIRA NETO; M. B. **Adensamento e compactação de solos irrigáveis da zona semi-árida do Nordeste brasileiro.** *Publicação Embrapa Solos UEP Nordeste*; 2007.

Sims L; Pastor J; Lee T; et al. (2012) Nitrogen; phosphorus and light effects on growth and allocation of biomass and nutrients in wild rice. *Oecologia* 1:65–76.

SINGH D; SARKAR R (2014) Distinction and characterisation of salinity tolerant and sensitive rice cultivars as probed by the chlorophyll fluorescence characteristics and growth parameters. *Funct Plant Biol* 41:727–736

SIQUEIRA; J.O.; LAMBAIS; M.R. & STURMER; S.L. Fungos micorrízicos arbusculares: características; associação simbiótica e aplicação na agricultura. *Biotechnol. Ci. Desenv.*; v.25; p.12-21; 2002.

SMITH, S.E., READ, D.J. *Mycorrhizal Symbiosis*. Califórnia: Academic Press; 3 edition. 800p. 2008.

SMITH; S.E. & READ; D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. 3.ed. London; Academic Press; 2008. 785p.

SMITH; S.E.; READ; D.J. *Mycorrhizal Symbiosis*. Califórnia: Academic Press; 3 edition. 800p. 2008.

SMITH; S.E.; SMITH; F.A. & JAKOBSEN; I. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth and total P uptake. *New Phytol.*; 162:511-524; 2004.

Soll, J. and Schleiff, E. Protein import into chloroplasts. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 198–208; 2004.

SOLOMON; D.; LEHMANN; J.; KINYANGI; J.; LIANG; B.; SCHÄFER; T. Carbon K-edge NEXAFS and FTIR-ATR Spectroscopic Investigation of Organic Carbon Speciation in Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* v.69; p.107–119. 2005.

SOUSA, A. B. O.; et al. **Germinação e desenvolvimento inicial de clones de cajueiro comum sob irrigação com água salina.** *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*; v.15; n.4; p.390-394; 2011.

SOUSA, C.P. Ação de herbicidas sobre a atividade fotossintética de plantas com metabolismo C3 e C4. Tese. Universidade Federal de Pelotas; Pelotas; 122p. 2012.

STEPIEN; P.; KLOBUS; G. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Rev. Biologia Plantarum.* 50(4): 610-616; 2006.

STEVENSON; F. J. Organic forms of soil nitrogen. In: John Wiley; ed. *Humic Chemistry: Genesis; Composition; and Reaction.* New York. p 59-95. 1994.

STEVENSON; F. J. Organic forms of soil nitrogen. In: John Wiley; ed. *Humic Chemistry: Genesis; Composition; and Reaction.* New York. p 59-95. 1994.

STEVENSON; F.J.; *Geochemistry of Soil Humic Substances.* In: (Eds AIKEN; G.R.; MCKNIGHT; D.M.; WERSHAW; R.L.) *Humic Substances in Soil; Sediment and water;* Wiley & Sons New York. p.13.1985.

Strasser, R.J. The grouping model of plant photosynthesis. In: Akoyunoglou G (ed) *Chloroplast development.* Elsevier, Dordrecht, pp 513–524, 1978.

Strasser, R.J. The grouping model of plant photosynthesis: heterogeneity of photosynthetic units in thylakoids. In: Akoyunoglou G (ed) *Photosynthesis III. Structure and molecular organisation of the photosynthetic apparatus.* Balaban International, Philadelphia, p.727–737, 1981.

Strasser, R.J.; Govindjee. The F0 and the O-J-I-P fluorescence rise in higher plants and algae. In: Argyroudi- Akoyunoglou JH (ed) *Regulation of chloroplast biogenesis.* Plenum, New York, p 423–426, 1992.

Strasser RJ, Srivastava A, Govindjee. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochem Photobiol* 61:32–42, 1995.

Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds) *Chlorophyll fluorescence: a signature of*

photosynthesis. *Advances in photosynthesis and respiration series*, vol 19. Kluwer, Rotterdam, p. 321–362, 2004.

TAIZ; L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ªed. Porto Alegre: Artmed; 2017. 858 p.

TAIZ; L.; ZEIGER; E. **Plant Physiology**. 5th ed. Sunderland: Sinauer Associates; 2010.

TAN; K.H. *Humic matter in soil and the environment: principles and controversies*; CRC Press; 408p. 2003.

TAVARES, O. C. H. Efeito dos ácidos húmicos sobre as H<sup>+</sup>-ATPASE, transportadores de N-NO<sup>3-</sup> e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, e sobre o crescimento em arroz. 2014. 118 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

TAVARES; O. C. H.; SANTOS; L. A.; FERREIRA; L. M.; SPERANDIO; M. V. L.; ROCHA; J. G.; GARCÍA; A. C.; DOBBS; L. B.; BERBARA; R. L. L.; SOUZA; S. R.; FERNANDES; M. S. Humic acid differentially improves nitrate kinetics under low and high-affinity systems and alters the expression of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPases and nitrate transporters in rice. *Ann. Appl. Biol.*; 16 p. 2016.

TESTER; M.; DAVENPORT; R. **Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants**. *Annals of Botany*; v.91; n.5; p.503-527; 2003.

TIESSEN; H.; SAMPAIO; E.V.S.B.; SALCEDO; I.H. **Organic matter turnover and management in low input agriculture of NE Brazil**. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 61:99-103; 2001.

Timmis, J.N. et al. (2004) Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nat. Rev. Genet.* 5, 123– 135

Toda; Y.; M. Tanaka; D. Ogawa; K. Kurata; K. Kurotani; Y. Habu; T. Ando; K. Sugimoto; N. Mitsuda; E. Katoh; K. Abe; A. Miyao; H. Hirochika; T. Hattori and S. Takeda; 2013. Rice salt sensitive3 forms a ternary complex with JAZ and class-C bHLH factors and regulates jasmonate induced gene expression and root cell elongation. *Plant Cell*; 25: 1709–1725

TOGNETTI, V.B., MUHLENBOCK, P. and Van Breusegem, F. (2012) Stress homeostasis – the redox and auxin perspective. *Plant, Cell Environ.* **35**, 321– 333.

TOMATI; U.; BELARDINELLI; M.; ANDREU; M.; GALLI; E. Evaluation of Commercial Compost Quality. *Waste Management & Reserch*; v. 20; p. 389-397; 2002. Em: SILVA; M. F.; GUERRERO; F.; VILLAS; R. L.; SILVA; R.G. Transformação da matéria orgânica em substâncias húmicas durante a compostagem de resíduos vegetais. *Revista Brasileira de Agroecologia Rev. Bras. de Agroecologia*. 4(1):59-66. 2009.

Treseder KK, Allen MF (2002) Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test. *New Phytol* 155:507–515

TREVISAN, S.; FRANCIOSO, O.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors. *Plant signaling & behavior*, v. 5, n. 6, p. 635–43, 2010.

UNESCO. International symposium on ‘New Directions in Urban Water Management; 2007.

USDA. Foreign Agricultural Service. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>. Acesso em: 07/12/2019.

USDA/FAS. Grain: world markets and trade. May; 2015. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>

VASCONCELOS; M. C. C. A. **Salinização do solo em áreas irrigadas: aspectos físicos e químicos**. *Agropecuária Científica no Semiárido*; v. 10; n.1; p. 20-25; 2014.

VAZ; D. O. **Estudo das interações de íons metálicos divalentes com ácidos fúlvicos extraídos das águas do Rio Suwane**. Tese (Doutorado em Química). Centro de Ciências Físicas e Matemáticas; Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis; 2006.

Veresoglou SD; Menexes G; Rillig MC (2012) Do arbuscular mycorrhizal fungi affect the allometric partition of host plant biomass to shoots and roots? A meta-analysis of studies from 1990 to 2010. *Mycorrhiza* 3:227–35.

VIÉGAS; R.A.; SILVA; L.M.M.; VIÉGAS; P.R.A.; QUEIROZ; J.E.; ROCHA; I.M.A. Redução assimilatória de NO<sub>3</sub> em plantas de cajueiros cultivados em meio salinizado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*; v.8; n.2/3; p.189-195; 2004.

Wang; Y.; W. Zhang; K. Li; F. Sun; C. Han; Y. Wang and X. Li; 2008. Salt induced plasticity of root hair development is caused by ion disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Res.*; 121: 87–96

WHITBY; H.; VAN DEN BERG; C. M. G. Evidence for copper-binding humic substances in seawater. *Marine Chemistry*; v. 173; p. 282–290; 2015.

Woodson, J.D. and Chory, J. Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. *Nat. Rev. Genet.* 9, 383–395; 2008.

YAMAUCHI Y; FURUTERA A; SEKI K; TOYODA Y; TANAKA K; SUGIMOTO Y (2008) Malondialdehyde generated from peroxidized linolenic acid causes protein modification in heat-stressed plants. *Plant Physiol Biochem* 46:786–793

YAMAUCHI Y; SUGIMOTO Y (2010) Effect of protein modification by malondialdehyde on the interaction between the oxygen-evolving complex 33 kDa protein and photosystem II core proteins. *Planta* 231:1077–1088

YANG; C.W.; XU; H.H.; WANG; L.L.; LIU; J.; SHI; D.C. & WANG; G.D. Comparative effects of salt-stress and alkalistress on the growth; photosynthesis; solute accumulation; and ion balance of barley plants. *Photosynthetica*; 47:7986; 2009.

YEO; A. R. e FLOWERS; T.J. 1989. **Selection for physiological character: examples from breeding for salt tolerance.** In H.G. Jones; T. J. Flowers e M.B. Jones eds.; *Plants Under Stress*. Cambridge University Press; Cambridge. 217-234.

YEO; A.R.; CAPRON; S.J.M; FLOWERS; T.J.: The effect of salinity upon photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.): Gas exchange by individual leaves relation to their salt content. - *J. exp. Bot.* 36: 1240-1248; 1985.

ZAHRA; J.; NAZIM; H.; Cai; S.; HAN; Y.; WU; D.; ZHANG; B.; HAIDER; S. I.; ZHANG; G. **The influence of salinity on cell ultrastructures and photosynthetic apparatus of barley genotypes differing in salt stress tolerance.** *Acta Physiologiae Plantarum*; v. 36; p. 1261-1269; 2014.

ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmaléma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. *Planta*, v. 225, n. 6, p. 1583–1595. 2007

ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. *Planta*, v. 225, n. 6, p. 1583-1595, 2007.

ZANDONADI; D. B.; SANTOS; M. P.; DOBBS; L. B.; OLIVARES; F. L.; CANELLAS; L. P.; BINZEL; M. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA; A. L.; FAÇANHA; A. R. Nitric oxide mediates humic acid-induced root development and plasma membrane H<sup>+</sup> - ATPase activation. *Planta*; 231: 1025-1036; 2010.

ZENG; R.S. Disease resistance in plants through mycorrhizal fungi induced allelochemicals. In: INDERJIT; K.M. & MUKERJI; K.G.; eds. *Allelochemicals: Biological control of plant pathogens and diseases*. Dordrecht; Springer; 2006. p.181-192.

ZHONGQUN; H.; CHAOXING; H.; ZHIBIN; Z.; ZHIRONG; Z. & HUAISONG; W. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloid. Surface B.*; 59:128-133; 2007.

ZHU; J. K. **Plant salt tolerance.** *Trends in Plant Science*; v.6; p.66-71; 2001.

