

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

TESE

**Efeito de Alumínio, Molibdênio e de Estirpes
de Rizóbio em *Arachis pintoi*.**

HUMBERTO ANTÃO DE SOUSA E SILVA

2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**EFEITO DE ALUMÍNIO, MOLIBDÊNIO E DE ESTIRPES DE
RIZÓBIO EM *Arachis pintoi*.**

.

HUMBERTO ANTÃO DE SOUSA E SILVA

Sob a Orientação da Professora
Silvia Regina Goi

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências no Curso de Pós-graduação em
Fitotecnia

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2007

631.46

S586e

T

Silva, Humberto Antão de Sousa e,
1949-

Efeito de alumínio, molibdênio e
de estirpes de rizóbio em *Arachis*
pintoi/ Humberto Antão de Sousa e
Silva. - 2007.

134 f. : il.

Orientador: Silvia Regina Goi.

Tese (doutorado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro,
Instituto de Agronomia.

Bibliografia: f. 103-121.

1. Biologia do solo - Teses. 2.
Leguminosa - Inoculação - Teses. 3.
Nitrogênio - Fixação - Teses. 4.
Plantas - Efeito do nitrogênio -
Teses. 5. Plantas - Efeito do
alumínio - Teses. 6. Rizóbio -
Teses. I. Goi, Silvia Regina, 1954-
II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Instituto de
Agronomia. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

HUMBERTO ANTÃO DE SOUSA E SILVA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

TESE APROVADA EM 14/02/2007.

Silvia Regina Goi (Dr^a.) UFRRJ
Orientadora

Jorge Jacob Neto (Dr.) UFRRJ

Vera Lúcia Divan Baldani (Dr^a.) EMBRAPA/CNPAB

Maria Rita Scotti Muzzi (Dr^a.) UFMG

Fabio Lopes Olivares (Dr.) UENF

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,
Antão e Iolanda

A minha esposa,
Fátima.

Meus filhos,
Vivian, Beatrice e Lucas.

Aos meus irmãos,
Severina e Lauro

AGRADECIMENTOS

À professora Silvia pela amizade, paciência, dedicação e por ter permitido a conclusão deste curso.

Ao Prof. Jorge Jacob Neto pela atenção e amizade.

À Dr^a. Vera Lúcia Divan Baldani, Dr^a Maria Rita Scotti Muzzi e Dr. Fabio Lopes Olivares pela presença no comitê de defesa de Tese.

Aos Professores do Instituto de Agronomia e do Instituto de Floresta, pela cooperação na execução deste trabalho.

Aos colegas de Curso pela amizade e apoio nos momentos difíceis.

Ao amigo José Roberto pela amizade que resistiu ao tempo.

À Universidade Federal do Acre, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Embrapa-Agrobiologia, Embrapa-Acre, CEPEC-CEPLAC e CAPES pela oportunidade e ajuda na realização deste trabalho.

RESUMO GERAL

SILVA, Humberto Antão de Sousa e Silva. **Efeito de Alumínio, Molibdênio e de Estirpes de Rizóbio em *Arachis pintoi***. Seropédica: UFRRJ, 2007.133p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, R.J., 2007.

Na pecuária moderna, o uso de pastagens que permitem um bom ganho de peso é um fator imprescindível. A leguminosa *Arachis pintoi* apresenta-se como uma opção tanto para uma dieta alimentar eficiente, como para recuperação de pastagens degradadas devido ao seu potencial em fixação biológica de nitrogênio e resistência a solos ácidos com teor elevado de alumínio.

Com a finalidade de estudar o comportamento do *Arachis pintoi* em relação à inoculação com estirpes de rizóbio, tolerância ao alumínio e a influência do molibdênio, foram conduzidos experimentos em condições de casa de vegetação e câmara de crescimento. Nos experimentos de inoculação utilizaram-se as estirpes CIAT-5067, CIAT-5083, CIAT-5087, BR-1432 e BR-1433. Nos experimentos com alumínio foram utilizadas: a) Solução nutritiva simples, (10 μ M, 20 μ M, 40 μ M, 80 μ M e 160 μ M) e (2 μ M, 4 μ M, 8 μ M, 16 μ M e 32 μ M), na cultivar Amarillo. b) Solução nutritiva completa (20 μ M, 40 μ M, 80 μ M, 160 μ M e 320 μ M) na cultivar Amarillo e acesso BRA-031534 propagadas por sementes e nas cultivares Amarillo, Belmonte e acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente. No experimento com molibdênio, foi utilizada a cultivar Amarillo, quatro dosagens de molibdênio (0g.ha⁻¹, 50g.ha⁻¹, 100g.ha⁻¹ e 200g.ha⁻¹), três níveis de pH (4,0; 5,0 e 6,0) e duas épocas de coleta (49 e 78 dias).

Nos experimentos de seleção de estirpes, as plantas inoculadas com as estirpes CIAT, apresentaram uma boa resposta à nodulação principalmente em relação à cultivar Belmonte, e com a mesma efetividade que as estirpes nativas. Na cultivar Belmonte foi observado efeito deletério do nitrogênio no número de nódulos por planta. Os resultados obtidos nos experimentos com Al, em solução nutritiva simples mostraram uma redução no crescimento, redução na massa seca da raiz e uma redução avaliada em 27% pelo comprimento radicular relativo entre as concentrações de 16 μ M e o controle. Ocorreram nestes experimentos respostas às concentrações de alumínio, com aparecimento de mucilagem e escurecimento da raiz primária. Nos estudos envolvendo solução nutritiva completa, as plântulas da cultivar Amarillo e do acesso BRA-031534 propagadas por sementes tiveram redução no crescimento da raiz primária e no comprimento relativo da raiz em relação à testemunha. Nas concentrações de 320 μ M e 160 μ M, observou-se uma redução de 51% e 49% respectivamente, na cultivar Amarillo e no acesso BRA-031534. Também foi observado na cultivar Amarillo, raízes com as extremidades escurecidas nas concentrações de 160 μ M e 320 μ M e aumento no número de raízes secundárias a partir da concentração de 80 μ M. O corante violeta de pirocatecol parece promissor em permitir uma visualização dos efeitos do alumínio para a cultivar Amarillo e acesso BRA-031534. O alumínio influenciou as cultivares e acesso testados com a cultivar Belmonte formando um maior número de raízes adventícias que a cv Amarillo e o acesso BRA-031534. A partir da concentração de 80 μ M, ocorreu uma redução no comprimento das raízes adventícias das cultivares e acesso testados. A aplicação de molibdênio foi eficiente na segunda colheita no pH 6,0 sendo obtido um maior número de nódulos na concentração de 200g.ha⁻¹. O pH interferiu na nodulação.

Palavras Chave: *Arachis pintoi*, leguminosa, fixação biológica de nitrogênio.

GENERAL ABSTRACT

SILVA, Humberto Antão de Sousa e Silva. **Effect of Aluminum, Molybdenum and strains of Rizóbio in *Arachis pinto***. Seropédica: UFRRJ, 2006. 133p. Thesis (Doctoral in Fitotecnia)

In a modern cattle-breeding using pastures that allows a gain of weight is an essential factor. The *Arachis pinto* is an option to a good alimentary diet and to the recuperation of degraded pastures, due to its potential in biological fixation of nitrogen and resistance to acid soil with high contents of aluminium.

Experiments were conducted in greenhouse and growth chamber condition, in order to study the behavior of *Arachis pinto* (Amarillo cv., Belmonte cv. and accession BRA-031534) in its relation to inoculation with rhizobial strains, aluminium tolerance and Mo influence. Strains CIAT-5067, CIAT-5083, CIAT-5087, BR-1432 e BR-1433 were used in inoculation experiments. In experiments with aluminium were used: a) A simple nutritive solution, initially with rates 10 μ M, 20 μ M, 40 μ M, 80 μ M and 160 μ M, and later 2 μ M, 4 μ M, 8 μ M, 16 μ M e 32 μ M, b) A complete nutritive solution with rates 20 μ M, 40 μ M, 80 μ M, 160 μ M and 320 μ M at Amarillo cv. and access BRA-031534 propagated by seeds and at the Amarillo and Belmonte cv. and access BRA-031534 vegetatively propagated. In the experiment with Mo, four rates of molybdenum (0g.ha⁻¹, 50g.ha⁻¹, 100g.ha⁻¹ e 200g.ha⁻¹), three levels of pH (4,0; 5,0 e 6,0) and two collection dates (49 days and 78 days) were used.

The plants inoculated with CIAT strains, presented a good response to nodulation especially in relation to Belmonte cv., and with the same effectiveness of native strain. It was observed deleterious effect of nitrogen in the number of nodules. The results in simple nutritive solution had shown reduction in growth and dry mass of the root and a reduction evaluated in 27% by the relative root length between the concentration of 16 μ M and the control. In these experiments were observed responses to the concentration of aluminium, with appearance of mucilage and darkening of the primary root. In studies involving complete nutritional solution, Amarillo cultivar and accession BRA-031534 propagated by seeds had had reduction in the growth of the primary root and in relative length of the root in relation to the control. In the concentrations of 320 μ M and 160 μ M, a reduction of 51% and 49% respectively, in the Amarillo cultivar and access BRA-031534. It was also observed in this study with the Amarillo cultivar, roots with tip dark in the concentrations of 160 μ M and 320 μ M, and increase in the number of secondary roots from the concentration of 80 μ M. Pyrocatecol violet dyes seems to be promising in allowing a visualization of aluminum effects to Amarillo cultivar and accession BRA-031534. The aluminum in vegetative propagation influenced the cultivars and accession tested. Belmonte cultivar formed a higher number of adventitious roots when compared with Amarillo cv and accession BRA-031534, and with a concentration of 80 μ M a reduction in the adventitious roots length of the tested cultivars and access occurred. The molybdenum application promote answer in the second harvest in the pH 6,0 being obtained a larger number of nodules in the concentration of 200g.ha⁻¹. The pH intervened in the nodulation.

Key words: *Arachis pinto*, legume, biological nitrogen fixation.

LISTA DE TABELA

CAPÍTULO I. EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO EM PLÂNTULAS DE <i>Arachis pintoi</i> PROPAGADAS VEGETATIVAMENTE.....	08
Tabela 1 Resultado da análise do solo.....	14
Tabela 2 Composição química da solução com Micronutrientes + Mg (Goi, 1981).....	14
Tabela 3 Composição química da solução com Macronutriente (Goi, 1981).....	15
Tabela 4 Meio de cultura para crescimento de <i>Rhizobium</i> sp.....	15
CAPÍTULO II. EFEITO DO ALUMÍNIO NO CRESCIMENTO DE <i>Arachis pintoi</i>.....	42
Tabela 1 Solução nutritiva para macronutriente (solução estoque) estabelecida por Jacob Neto (1993).....	55
Tabela 2 Solução nutritiva para micronutriente (solução estoque) estabelecida por Jacob Neto (1993).....	55
Tabela 3 Avaliação baseada na análise visual da cor da raiz, utilizando o corante Violeta de Pirocatecol. Média de três notas.....	64
Tabela 4 Avaliação baseada na análise visual da cor da raiz, utilizando o corante Violeta de Pirocatecol. Média de três notas.....	74
Tabela 5 Avaliação baseada na análise visual da cor da raiz, utilizando o corante hematoxilina Média de três notas.....	74
CAPÍTULO III RESPOSTA DE <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo À APLICAÇÃO DE MOLIBDÊNIO.....	81
Tabela 1: Resultados de análise química do solo.....	88
Tabela 2: Resultado da análise granulométrica do solo.....	88

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I. EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO EM PLÂNTULAS DE <i>Arachis pintoi</i> PROPAGADAS VEGETATIVAMENTE.....	08
Figura 1 Número de nódulo na raiz de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo propagadas vegetativamente	18
Figura 2 Peso da massa seca de nódulo na raiz de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo propagadas vegetativamente.....	19
Figura 3 Peso da massa seca da raiz de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo propagadas vegetativamente.....	19
Figura 4 Peso da massa seca da parte aérea de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo propagadas vegetativamente.....	20
Figura 5 Comprimento da raiz de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo propagadas vegetativamente.....	21
Figura 6 Comprimento da parte aérea de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo propagadas vegetativamente.....	21
Figura 7 Eficiência relativa das estirpes inoculadas CIAT-5067 (BR-1407), CIAT-5083 (BR-1414) e CIAT-5087 (BR-1418) em plantas de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo propagadas vegetativamente.....	22
Figura 8 Número de nódulos na raiz de <i>Arachis pintoi</i> cv. Belmonte propagadas vegetativamente.....	23
Figura 9 Peso da massa seca de nódulo de <i>Arachis pintoi</i> cv. Belmonte propagadas vegetativamente.....	23
Figura 10 Peso da massa seca da raiz de <i>Arachis pintoi</i> cv. Belmonte propagadas vegetativamente.....	24
Figura 11 Peso da massa seca da parte aérea de <i>Arachis pintoi</i> cv. Belmonte propagadas vegetativamente.....	25
Figura 12 Comprimento da raiz de <i>Arachis pintoi</i> cv. Belmonte propagadas vegetativamente.....	26
Figura 13 Comprimento da parte aérea de <i>Arachis pintoi</i> cv. Belmonte propagadas vegetativamente.....	26
Figura 14 Eficiência relativa das estirpes inoculadas CIAT-5067 (BR-1407), CIAT-5083 (BR-1414) e CIAT-5087 (BR-1418) em plantas de <i>Arachis pintoi</i> cv. Belmonte propagadas vegetativamente.....	27
Figura 15 Número de nódulos na raiz de <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente.	27
Figura 16 Peso da massa seca de nódulo de <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente.....	28
Figura 17 Comprimento da raiz de <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente.....	28
Figura 18 Peso da massa seca da raiz de <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente.....	29
Figura 19 Peso da massa seca da parte aérea de <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente.....	29
Figura 20 Eficiência relativa das estirpes inoculadas CIAT-5067 (BR-1407), CIAT-5083 (BR-1414) e CIAT-5087 (BR-1418) em plantas de <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente.....	30
Figura 21 Número de nódulos na raiz de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	31
Figura 22 Peso da massa seca de nódulos de <i>Arachis pinto</i> propagadas vegetativamente.....	32

Figura 23 Comprimento de raiz de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	33
Figura 24 Peso da massa seca da parte aérea de <i>Arachis pintoi</i>	33
Figura 25 Peso da massa seca da raiz de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	34
Figura 26 Eficiência relativa das estirpes inoculadas BR-1432 e BR1433 em plântulas de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo, Belmonte e acesso BRA-031534.....	34
Figura 27 Número de nódulos na raiz de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	36
Figura 28 Peso da massa seca de nódulos na raiz de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	36
Figura 29 Comprimento de raiz de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	37
Figura 30 Comprimento de parte aérea de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	37
Figura 31 Peso da massa seca da parte aérea de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	38
Figura 32 Peso da massa seca da raiz de <i>Arachis pintoi</i> propagadas vegetativamente.....	39
Figura 33 Eficiência relativa das estirpes inoculadas BR-1432; BR-1433 e CIAT-5087 (BR-1418) na cultivar Amarillo, cultivar Belmonte e acesso BRA-031534.....	39
Figura 34 Plântula na época de coleta.....	41

CAPÍTULO II. EFEITO DO ALUMÍNIO NO CRESCIMENTO DE *Arachis pintoi*.....

Figura 1 Comprimento da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo, submetida a diferentes concentrações de alumínio.....	56
Figura 2 Comprimento relativo da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo no sétimo dia após o transplântio.....	57
Figura 3 Peso da massa seca da raiz do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio.....	57
Figura 4 Peso da massa seca da parte aérea do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio.....	58
Figura 5 Raiz do <i>Arachis pintoi</i> com presença de mucilagem provocada pelas diferentes concentrações de alumínio aos sete dias após a exposição ao alumínio.....	59
Figura 6 Efeitos de diferentes concentrações de alumínio no comprimento da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo aos sete dias após a exposição ao alumínio.....	60
Figura 7 Comprimento da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo, submetida a diferentes concentrações de alumínio.....	61
Figura 8 Efeito das épocas de avaliação (Inicial, 3 e 7 dias após o transplântio), no comprimento da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio.....	62
Figura 9 Comprimento relativo da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo com 7 dias após o transplântio.....	62
Figura 10 Peso da massa seca da raiz do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo submetida a diferentes concentrações de alumínio.....	63
Figura 11 Peso da massa seca da parte aérea do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio.....	63
Figura 12 Foto da raiz de <i>Arachis pintoi</i> em senescência com danos provocados pelo alumínio.....	65
Figura 13 Efeito das diferentes concentrações de alumínio na raiz de <i>Arachis pintoi</i> cultivar Amarillo.....	66
Figura 14 Comprimento da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo em solução nutritiva.....	67
Figura 15 Comprimento relativo da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo com 28 dias após o transplântio.....	68

Figura 16 Peso da massa seca da raiz do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo submetida a diferentes concentrações de alumínio.....	69
Figura 17 Peso da massa seca da parte aérea do <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 28 dias.....	69
Figura 18 Efeito das diferentes concentrações de alumínio na morfologia da raiz primária de <i>Arachis pintoi</i> cv. Amarillo.....	70
Figura 19 Comprimento da raiz primária do amendoim forrageiro <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 submetida a diferentes concentrações de alumínio.....	71
Figura 20 Comprimento relativo da raiz primária do <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534.....	72
Figura 21 Peso da massa seca da raiz do <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 21 dias.....	73
Figura 22 Peso da massa seca da parte aérea do <i>Arachis pintoi</i> acesso BRA-031534 submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 21 dias.....	73
Figura 23 Comprimento da raiz adventícia emitida na parte inferior do estolão de <i>Arachis pintoi</i> submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 21 dias.....	75
Figura 24 Comprimento da raiz adventícia emitida na parte médio do estolão de <i>Arachis pintoi</i> submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 21 dias.....	76
Figura 25 Comprimento da raiz adventícia emitida na parte superior do estolão de <i>Arachis pintoi</i> submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 21 dias.....	77
Figura 26 Peso da massa seca da raiz adventícia emitida pelo estolão do <i>Arachis pintoi</i> submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 21 dias.....	78
Figura 27 Comprimento total da raiz adventícia do <i>Arachis pintoi</i> submetida a diferentes concentrações de alumínio durante 21 dias.....	78
Figura 28 Esquema de divisão dos estolões em parte inferior, média e superior, para determinação de comprimento das raízes adventícias.....	79

CAPÍTULO III RESPOSTA DE *Arachis pintoi* cv. Amarillo À APLICAÇÃO DE MOLIBDÊNIO.....

Figura 1 Efeitos do pH em plântulas da cultivar Amarillo na primeira coleta, aos 49 dias após o plantio.....	90
Figura 2 Número de nódulos da cultivar Amarillo na primeira coleta.....	91
Figura 3 Peso da massa seca de nódulos da cultivar Amarillo na primeira coleta.....	91
Figura 4 Comprimento da raiz principal da cultivar Amarillo na primeira coleta.....	92
Figura 5 Peso da massa seca da raiz da cultivar Amarillo na primeira coleta.....	93
Figura 6 Peso da massa seca da parte aérea da cultivar Amarillo na primeira coleta.....	94
Figura 7 Efeitos do pH em plântulas da cultivar Amarillo na segunda coleta aos 78 dias após o plantio.....	95
Figura 8 Número de nódulos na segunda coleta.....	96
Figura 9 Peso da massa seca de nódulos da cultivar Amarillo na segunda coleta.....	96
Figura 10 Comprimento da raiz principal da cultivar Amarillo na segunda coleta.....	97
Figura 11 Peso da massa seca da raiz na segunda coleta.....	98
Figura 12 Comprimento da parte aérea na segunda coleta.....	99
Figura 13 Peso da massa seca da parte aérea de molibdênio na segunda coleta.....	99
Figura 14 Efeito das diferentes concentrações de molibdênio de <i>Arachis pintoi</i> cultivar Amarillo na primeira e segunda coleta.....	100

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
2 CAPÍTULO I.	8
EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO EM PLÂNTULAS DE <i>Arachis pintoï</i> PROPAGADAS VEGETATIVAMENTE.	8
2.1 RESUMO	9
2.2 ABSTRACT	10
2.3 INTRODUÇÃO	11
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	14
2.4.1 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio CIAT-5067; CIAT-5083; CIAT-5087 em plântulas de <i>Arachis pintoï</i>, propagadas vegetativamente	16
2.4.2 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio BR-1432, BR-1433 e CIAT-5087 em plântulas de <i>Arachis pintoï</i>, propagadas vegetativamente	17
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
2.5.1 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio em plântulas da cv. Amarillo propagadas vegetativamente	18
2.5.2 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio em plântulas da cv. Belmonte propagadas vegetativamente.	22
2.5.3 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio em plântulas do acesso BRA-031534, propagadas vegetativamente.	27
2.5.4 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio BR-1432 e BR1433 em plântulas de <i>Arachis pintoï</i> propagadas vegetativamente	30
2.5.5 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio BR-1432; BR-1433 e CIAT-5087 em plântulas de <i>Arachis pintoï</i> propagadas vegetativamente	35
2.6 CONCLUSÕES	40
3 CAPÍTULO II.	42
EFEITO DO ALUMÍNIO NO CRESCIMENTO DE <i>Arachis pintoï</i>.	42
3.1 RESUMO	43
3.2 ABSTRACT	44
3.3 INTRODUÇÃO	45
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	53
3.4.1 Tolerância ao alumínio no crescimento de plântulas da cultivar Amarillo propagadas por sementes	53
3.4.2 Tolerância ao alumínio no crescimento de plântulas de <i>Arachis pintoï</i> propagadas por sementes e propagação vegetativa	54
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
3.5.1 Experimento I	56
3.5.2 Experimento II	61
3.5.3 Tolerância ao alumínio em plântulas da cultivar Amarillo propagadas por sementes	67
3.5.4 Tolerância ao alumínio em plântulas do acesso BRA-031534 propagadas por sementes	71
3.5.5 Tolerância ao alumínio em plântulas de <i>Arachis pintoï</i> propagadas vegetativamente	74
3.6 CONCLUSÕES	80
4 CAPÍTULO III.	81
RESPOSTA DE <i>Arachis pintoï</i> cv. AMARILLO À APLICAÇÃO DE MOLIBDÊNIO	81
4.1 RESUMO	82

4.2 ABSTRACT	83
4.3 INTRODUÇÃO	84
4.4 MATERIAL E MÉTODOS	88
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
4.6 CONCLUSÕES	101
5. CONCLUSÕES GERAIS	102
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os solos ácidos de baixa fertilidade ocupam em torno de 40% da área agrícola mecanizada do mundo (CIAT, 1991), tornando-se o principal problema em regiões tropicais e subtropicais, onde representam 60% dos solos ácidos da superfície terrestre. Este fato limita a produção agrícola dos países em desenvolvimento, nos quais a produção de alimento é crítica (Kochian et al., 2004).

Este cenário valoriza a utilização de leguminosas, no sistema de produção animal em pastagens, pela qualidade que estas forrageiras oferecem à dieta e também pelo aporte de nitrogênio fixado biologicamente incorporado ao ecossistema pastoril, a um baixo custo. Além disso, a leguminosa forrageira reduz os efeitos negativos da atividade agropecuária sobre a qualidade do solo e da água, levando à redução da adubação química nitrogenada e da poluição do lençol freático causada pela lixiviação do excesso de nitrogênio aplicado ao solo (Lima et al, 2004). O *Arachis pintoi* é uma das leguminosas com grande potencial para ser usada em pastagens. É originária do Brasil, sendo introduzido na Austrália, Estados Unidos, e outros países no Sudeste da Ásia e América Central (Mannetje, 2006). Oliveira et al (2003), observaram que a liberação de nutrientes, a taxa de decomposição e o número de microrganismos aumentaram quando o amendoim forrageiro foi adicionado ao capim jaraguá, indicando que o *Arachis pintoi* tem um papel importante na ciclagem de nutrientes e pode ser uma opção na recuperação de áreas degradadas. Duda et al (2003), verificaram que o *Arachis pintoi* como cobertura viva favoreceu a biomassa microbiana, carbono e nitrogênio do solo.

A espécie *Arachis pintoi* Krapovickas & Gregory é uma dicotiledônea pertencente à família Leguminosae e subfamília Papilionoideae. Caracteriza-se por ter porte herbáceo perene, de crescimento rasteiro, hábito estolonífero, prostrado, lançando estolões horizontalmente em todas as direções com pontos de crescimento bem protegidos. Estes estolões apresentam o desenvolvimento radicular sob a forma de raízes adventícias, formando-se a partir do caule, originadas da divisão celular do córtex. Geralmente tem origem endógena, surgindo próximo aos tecidos vasculares, ou seja, a nova raiz aparece próxima ao câmbio. Quando as raízes são formadas em explantes elas provavelmente se originam do tecido que se localiza na base do explante, os seus primórdios são iniciados por divisões de células do parênquima, e antes da emergência do caule são diferenciados em meristema apical, uma coifa e o começo do cilindro vascular e do córtex. Se os elementos vasculares se diferenciam a partir de células do parênquima, localizados na extremidade proximal do primórdio, estes passam a fornecer uma conexão com os elementos correspondentes do órgão principal (Zonta et al, 2006). O florescimento de *Arachis pintoi* é contínuo, com formação do fruto abaixo da superfície do solo o que favorece a persistência desta leguminosa em pastagens consorciadas. A planta possui porte baixo e dificilmente ultrapassa 30-40 cm de altura, e sua raiz pivotante pode atingir 1,60 metros de profundidade. Floresce muitas vezes no ano, começando na quarta ou quinta semana após a emergência das plantas, e produz vagens normalmente com uma semente, raramente duas e apresenta uma média de seis a oito mil sementes por quilo.

A propagação vegetativa do *Arachis pintoi* é realizada com estolões de aproximadamente 20cm de comprimento, plantadas em sulcos no espaçamento de 0,35 m em monocultivo e 1,0 m quando em consórcio com outras gramíneas. Dois meses após a semeadura, obtém-se um bom desenvolvimento estolonífero, produção de sementes e compatibilidade no consórcio com gramíneas (Asakawa & Ramirez, 1989). Ele também apresenta viabilidade no estabelecimento por coroa com raiz em pastagens já estabelecidas, demonstrando um grande potencial, (Machado et al, 2005; Lima et al, 2004; Wilkinson et al, 2004; Perin et al, 2003). Produz uma massa seca de até 2.000 kg/ha em 152 dias após o

plantio em campo nativo, e cerca de 500 kg/ha, 102 dias após o plantio em pastagens de *Cynodon dactylon* (coastcross-1) (Perez, 1999). Quando plantado em consórcio na Nicarágua e na Costa Rica com *Brachiaria*, o *Arachis pintoi* reduziu o custo do leite para o produtor em 13% e 37%, respectivamente (Holmann, 2000). Andrade et al (2006) recomenda para as condições da Amazônia ocidental o uso de pastagens consorciadas de capim massai (*Panicum maximum x Panicum infestum*, cv massai) e *Arachis pintoi* Ac 01 capaz de permitir uma capacidade de suporte de 2,7 unidade animal (UA) por hectare. O amendoim forrageiro tem sido bastante utilizada no Brasil, principalmente a cultivar Belmonte que produz 20 t/ha/ano de forragem (matéria seca) em monocultivo de boa qualidade e possui grande persistência no solo. Possui uma capacidade de fixação biológica de nitrogênio variando de 80 a 120 kg.ha.⁻¹.ano⁻¹, teor de proteína bruta de 19% e uma capacidade de suporte forrageiro de 4UA.ha⁻¹. Em função de sua agressividade em recobrir o solo, boa adaptação a solos ácidos, de baixa a média fertilidade e tolerância ao sombreamento, a cv. Belmonte se consorcia bem com espécies de gramíneas igualmente agressivas como as do gênero *Brachiaria*, proporcionando neste consórcio um ganho de peso de 565 g/animal/dia (Pereira et al, 2004; Valentim et al, 2003; Valentim et al, 2000). O cultivar Belmonte possui maior capacidade produtiva e tolerância ao sombreamento que as leguminosas *Pueraria phaseoloides* e *Arachis pintoi* BRA-031143.

O acesso BRA-031534 de *Arachis pintoi* se apresenta como promissor para uso em pastagem por apresentar boa produção de sementes, além disso, possui a capacidade de no primeiro ano de cultivo obter uma produção de matéria seca que excede 4t.ha⁻¹, um teor de nitrogênio total acima de 74% em solos de baixada periodicamente inundável (Miranda et al, 2003), e o teor de proteína bruta de 22,89% aos 120 dias após o plantio (Lima et al, 2004).

A Embrapa-CPAF no Acre está atualmente organizando um banco de germoplasma de *Arachis pintoi*, na tentativa de resgatar todo o potencial e cultivares existentes no Brasil. Um dos cultivares utilizados, o acesso BR-031534, foi gentilmente cedido pela Embrapa-CPAF.

O *Arachis pintoi* conhecido na Austrália como Amarillo, na Colômbia como CIAT 17434 é registrado no Brasil como BR-013251 também se caracteriza por apresentar elevada produção de sementes o que permite aumentar a sua persistência no solo. Ele apresentou na Colômbia, uma capacidade de fixação biológica de nitrogênio maior que 80% de suas demandas nutricionais em nitrogênio (Miranda et al, 2003; Thomas et al, 1997), e uma transferência de nitrogênio para as gramíneas em consórcio de 25% para capim estrela e 12% para outras gramíneas (Rodríguez-Florez 1998). A quantidade de nitrogênio fixada está diretamente relacionada com o crescimento, e fatores como doenças ou estresse hídrico que podem afetar a fixação de nitrogênio (Thomas, 1994). Apresenta requerimento altamente específico para a estirpe CIAT-3101 (Cook et al, 1990). Esta cultivar permite ainda um ganho de peso animal em torno de 180kg.cabeça⁻¹.ano⁻¹ (Cruz et al, 1994), e aos 120 dias após o plantio apresenta uma produção de matéria seca de 2,64 t.ha⁻¹ e um teor de proteína bruta de 23,66% (Lima et al, 2004) com uma capacidade de suporte forrageiro de 3 UA.ha⁻¹.ano (Pizarro & Rincón, 1993).

O hábito de crescimento rasteiro formando uma densa camada de estolões enraizados e a habilidade de crescer sob sombreamento conforme foi verificado para o *Arachis pintoi* quando plantado isoladamente ou em consórcio com diferentes espécies de brachiaria (Plazas & Lascano, 2006; Andrade & Valentim, 1999; Grant, 1995), tornam-se aspectos facilitadores do manejo desta leguminosa, quando consorciadas com fruteiras. É utilizada na Colômbia nas plantações de caucho e palma africana com boa cobertura vegetal (Peters et al, 2006), definindo claramente a capacidade do amendoim forrageiro como cobertura viva permanente do solo, protegendo-o dos efeitos erosivos e chuvas fortes, servindo como fonte de adubo verde e permitindo seu uso em sistemas agro-florestais (Lima et al, 2004; Perin et al, 2000; Andrade & Valentim, 1999; Grant, 1995; Cook et al, 1990). Além disso, o *Arachis pintoi*

apresenta excelente adaptação, velocidade de crescimento e elevado teor de proteína bruta, durante o período de estabelecimento nas condições ambientais de Rio Branco-Acre (Valentim et al., 2003), e tolerância a solo úmido (Plazas & Lascano, 2006), no qual o excesso de umidade não afeta seu desenvolvimento ou rendimento de matéria seca.

A implantação da cultura por meio de sementes é o método mais utilizado, porém devido à localização do fruto no solo e seu desprendimento na colheita, a coleta torna-se difícil e pouco econômica. Na época da maturação, 95% das sementes de *Arachis pintoi* encontram-se nos primeiros dez centímetros do perfil do solo e destas, 97% encontram-se soltas. As sementes utilizadas atualmente no Brasil são importadas da Bolívia, o que torna o plantio da espécie no Brasil muito cara e sem acesso a pequenos produtores rurais. A cultivar Belmonte apresenta a desvantagem de produzir poucas sementes, tornando-se fundamental o uso de material vegetativo para seu plantio. O fato desta cultivar estar disponível apenas na forma de estolão e não de sementes, implica em que todos os esforços devem ser realizados para aumentar a capacidade de estabelecimento da cultivar, que apresenta os seguintes índices para sua propagação:

- Altitude: Nível do mar a 1800m.
- Precipitação: Acima de 1200mm.
- Florescimento: 4 a 5ª semana.
- Altura da planta: 30 a 40cm.
- Comprimento da raiz pivotante: Até 1,60m.
- Propagação Estolão.
Semente.
- Estolões: Época do plantio: Início período chuvoso.
Cova: 10cm profundidade x 20cm de largura.
Quantidade de estolões: 6/cova.
Comprimento do estolão: 20cm a 25cm.
Espaçamento: Cova: 1m entre linha x 0,5m entre cova.
Sulco: 0,50m.
Profundidade de plantio: 10cm.
Material vegetativo: 500 a 600kg/ha.
- Semente: Quantidade para plantio: 10 a 15kg/ha.
Profundidade de plantio: 2 a 4cm.
Espaçamento: 50 x 60cm.
Produção de sementes: 200 a 7.000kg/há.
- Espaçamento de consórcio gramínea x leguminosa: 2,0x3,5m de largura.
- Capina: 35 e 70 dias.
- Adubação: 50 kg de P₂O₅/ha de Superfosfato Simples aplicado após a primeira capina (Lima et al, 2004; Mannetie, 2006; Pereira et al, 2004; Valentim et al, 2000).

Porém entre os fatores que podem limitar o desenvolvimento do *Arachis pintoi* o alumínio é um fator importante devido a sua influência no desenvolvimento da planta e na fixação biológica de nitrogênio. Cita-se que plântulas de amendoim *Arachis hypogaea* L. quando avaliadas em relação à toxidez provocada pelo alumínio apresentaram atraso na nodulação, redução no número de nódulos e na massa seca de nódulos em concentrações maior ou igual a 30µM de alumínio, e as concentrações maiores ou iguais a 60µM tornaram as plantas cloróticas durante todo experimento (Shamsuddim et al, 1992). Com a utilização da concentração de 3µM (Brady et al, 1994) não ocorreu redução no peso seco da planta, comprimento da raiz, peso seco da raiz; mas o número de nódulos nesta concentração foi

reduzido em 70% observando-se que os nódulos apresentaram um aumento no peso seco. Entre as maneiras de superar esta toxidez do alumínio, Rao & Kerridge (1993) sugerem que o *Arachis pintoii* por apresentar uma alta concentração de alumínio na planta (600-800mg/kg) possui algum tipo de quelatação ou compartimentalização de alumínio para permitir esta tolerância.

Marziah et al (1995) notaram que a toxidez é um fator limitante ao crescimento do amendoim *Arachis hypogaea* e um aumento na concentração de alumínio de 10 μ M para 30 μ M provocou uma redução significativa na elongação da raiz, no peso seco da raiz além de um decréscimo no número de nódulos e no peso seco de nódulos. Franco & Munns (1992) verificaram que o peso seco da raiz e o crescimento do nódulo não foram afetados em feijão nas concentrações até 83 μ M, porém a colonização por *Rhizobium* já foi reduzida nas concentrações maiores que 33 μ M, mas em menor taxa que a elongação da raiz ou crescimento do caule.

Além do alumínio, o molibdênio se caracteriza por sua importância como um micronutriente fundamental para a fixação biológica de nitrogênio, por tratar-se de um elemento estrutural das enzimas redutase do nitrato e nitrogenase responsáveis pela assimilação do nitrato e fixação biológica de nitrogênio. A nutrição nitrogenada depende da disponibilidade deste nutriente no solo (Urquiaga et al, 1986). Além de geralmente apresentar baixa concentração, o molibdênio nos solos tropicais, se apresenta preso à matéria orgânica ou adsorvido nos óxidos, diminuindo assim a sua disponibilidade para as plantas. Estudos do nível crítico de molibdênio nos tecidos e nos nódulos têm sido utilizados como uma alternativa viável na indicação de deficiência deste nutriente em leguminosas (Jacob Neto et al, 1988). Segundo estudos de Jacob Neto & Franco (1986) a concentração de molibdênio nas várias partes da planta de feijão, decresceram. Com a idade das mesmas com baixa disponibilidade de molibdênio as maiores concentrações deste nutriente foram encontradas nos nódulos.

Deve-se considerar ainda, que o teor de molibdênio varie conforme o pH do solo, sendo que em pH baixo ocorre uma redução na sua disponibilidade, assim como em solos de textura arenosa, devido ao fato deste micronutriente perder-se por lixiviação (Dechen & Nachtigall, 2006).

Considerando estas limitações para o plantio do *Arachis pintoii*, e como o uso da propagação por estolões é o método mais utilizado, foram estudados alguns fatores limitantes ao seu desenvolvimento, como a fixação biológica de nitrogênio, toxidez do alumínio, bem como a importância da adição de molibdênio para o seu desenvolvimento. Os experimentos foram conduzidos de modo a selecionar a melhor cultivar e melhor estirpe de rizóbio em função destes fatores.

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, C.M.S.; GARCIA, R.; VALENTIM, J.F.; PEREIRA, O.G. Grazing management strategies for massagrass-forrage peanut pastures. 3. Definition of sward targets and carrying capacity. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, p.352-357, 2006.
- ANDRADE, C.M.S.; VALENTIM, J.F. Adaptação, produtividade e persistência de *Arachis pinto* submetido a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.28, n.3, p.439-445, 1999.
- ASAKAWA, N.M.; RAMIREZ R., C.A. Metodología para la inoculación y siembra de *Arachis pinto*. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.11, n.1, p.24-26, 1989.
- BRADY, D.J.; EDWARDS, D.G.; ASHER, C.J. Effects of aluminum on the peanut (*Arachis hypogaea* L.)/*Bradyrhizobium* symbiosis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.159, p.265-276, 1994.
- CIAT – Centro Internacional de Agricultura Tropical. Espécies **Forrajeras Tropicales: Explorando sus mecanismos de adaptación a suelos ácidos**. Cali.1991, p.49-57. (Informe CIAT).
- COOK, B.G.; WILLIAMS, R.J.; WILSON, G.P.M. Register of Australian herbage plant cultivars. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, n.30, p.445-446, 1990.
- CRUZ, R.; SUÁREZ, S.; FERGUSON, J.E. The contribution of *Arachis pinto* as a ground cover in some farming systems of tropical America. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and agronomy of forage Arachis**, Costa Rica, CIAT Publication nº 240, 1994, p.102-108.
- DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.M. Micronutrientes. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa.2006 Cap.XIII, p.327-354.
- DUDA, G.P.; MONTEIRO, M.T.; GUERRA, J.G.M.; DE-POLLI, H. TEIXEIRA, M.G. Utilização de leguminosas perenes como cobertura viva do solo. Influência sobre a biomassa microbiana C, N e P. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.60, p.139-147, 2003.
- FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. Acidity and aluminum restraints on nodulation, nitrogen fixation, and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v.46, p.296-300, 1982.
- GRANT. C.J. **Efecto de cuatro niveles de luz en la producción de biomassa y la calidad nutritiva de cinco especies forrajeras en el trópico húmedo de Costa Rica**. Costa Rica, 1995, 84p. Licenciatura em Engenharia Agrônômica com ênfase em Produção Universidad de Costa Rica, Turrialba.
- HOLMANN, F. **Ex ante analysis of new forage alternatives for farms with dual-purpose cattle in Peru, Costa Rica, and Nicaragua**. 26p. Cali. CIAT. Colombia. 2000.
- JACOB NETO, J.; FRANCO, A.A. **Adubação de molibdênio em feijoeiro**. 1986, EMBRAPA. Comunicado Técnico. v.1, p.1-3.
- JACOB NETO, J.; THOMAS, R.J.; FRANCO, A.A. Variação estacional da concentração de molibdênio nos nódulos e demais partes da planta de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Turrialba**, San José, v.38, p.51-58, 1988.
- KOCHIAN, L.V.; HOENGA, O.A.; PINEROS, M.A. How do crops plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. **Annual Reviews Plant Biology**. Palo Alto, v.55, p.459-493, 2004.
- LIMA, R.J.; PINTO, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; SANTANA, R.A. V. Amendoim forrageiro (*Arachis pinto* Krapov. & Greg.). http://www.editora.ufla.br/Boletim/pdf/extensao/bol_01.pdf. Acesso em 09 de março de 2004.

- MACHADO, A.N.; SIEWERDT, L.; ZONTA, E.P.; VAHL, L.C.; COLEHO, R.W.; FERREIRA, O.G.L.; AFFONSO, A.B. Rendimentos do amendoim-forrageiro estabelecido sob diferentes arranjos populacionais de plantas em planossolo. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.3, p.151-162, 2005.
- MANNETIE, L. *Arachis pintoii* Krap. & Greg. www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/dbase/data/pf000463.htm. Acesso em 23 de janeiro de 2006.
- MARZIAH, M.; ARIFFRIN, S.Z.; SHAMSUDDIM, Z.H. Effects of Al on growth, nodulation and polyphenol oxidase activities in groundnut. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v.27, n.4-5, p.679-681, 1995.
- MIRANDA, C.H.B.; VIEIRA, A.; CADISH, G. Determinação da fixação biológica de nitrogênio por intermédio da abundancia natural de ¹⁵N. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1859-1865, 2003.
- OLIVEIRA, C.A.; MUZZI, M.R.S.; PURCINO, H.A.; MARRIEL, I.E.; SÁ, N.M.H. Decomposição da serrapilheira de *Arachis pintoii* e *Hyparrhenia rufa* em sistemas de monocultura sob solo de várzea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.9, p.1089-1095, 2003.
- PEREIRA, J.M.; REZENDE, C.P.; SANTANA, J.R. Amendoim forrageiro cv. Belmonte (*Arachis pintoii* Krapov. & Gregory). Disponível em: www.ceplac.gov.br/AMENDOIMFORRAGEIRO. Acesso em 16/03/2004.
- PEREZ, N.B.; NABINGER, C.; MARASCHIN, G.E. Desenvolvimento inicial de *Arachis pintoii* introduzido sobre pastagem nativa. In: ANAIS DA XXXII REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 1985. p.53-56.
- PERIN, A.; TEIXEIRA, M.G.; GUERRA, J.G.M. Desempenho de algumas leguminosas com potencial para utilização como cobertura viva permanente de solo. **Agronomia**, Seropédica, v.34, n.1-2, p.38-43, 2000.
- PETERS, M.; PLAZAS, C.; FRANCO, L.H.; BETANCOURT, A. Desarrollo de leguminosas multipropósito para cobertura en plantaciones. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.21, n.1, 2006.
- PIZARRO, E.A.; RINCÓN, A. Regional experience with forage *Arachis* in South America and Mexico. p.144-157. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and agronomy of forage *Arachis***. CIAT Publication n° 240, Costa Rica. 1993, 209p.
- PLAZAS, C.H.; LASCANO, C.E. Alternativas de uso de leguminosas para los Lhanos Orientales de Colombia. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.28, n.1, 2006.
- RAO, I.M.; KERRIDGE, P.C. Mineral nutrition of forage *Arachis* p.71-83. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and Agronomy of Forage *Arachis***. CIAT Publication; n°240, 1993, 209p.
- RODRIGUEZ-FLORES, R. **Determinación de la fijación biológica de nitrógeno del *Arachis pintoii* Y absorción por el *Cynodon lemfuensis* con la metodología del 15N**. Licenciatura em Ingeniería Agronómica Heredia, 1998, 104p. Universidad Nacional.
- SHAMSUDDIM, Z.H.; KARRAN, R.; EDWARDS, D.G.; BLAMEY, F.P.C. Effects of calcium and aluminum on nodulation, nitrogen fixation and growth of groundnut in solution culture. **Plant and Soil**. Dodrecht, v.144, n.2, p.273-279, 1992.
- THOMAS, R.J.; ASAKAWA, N.M.; RONDON, M.A.; ALARCON, H.F. Nitrogen fixation by three tropical forage legumes in an acid-soil savanna of Centro Internacional de Agricultura Tropical-Colombia. **Soil Biology Biochemistry**. New York, v.29, n.5-6, p.801-808, 1997.
- THOMAS, R.J. Rhizobium requirements, nitrogen fixation, and nutrient cycling in forage *Arachis*. p.84-94. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and agronomy of forage *Arachis***. Costa Rica. CIAT Publication n° 240. 1994, p.209.

URQUIAGA, S.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.; BODDEY, R.M. Importância do molibdênio na fixação biológica e na nutrição nitrogenada da cultura da cana de açúcar. In: ANAIS DO XXIII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIENCIA DO SOLO. 1996. Águas de Lindóia. S.P.

VALENTIM, J.F.; ANDRADE, C.M.S.; MENDONÇA, H.A.; SALES, M.F.L. Velocidade de estabelecimento de acessos de amendoim forrageiro na Amazônia Ocidental. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.32, n.6, p.1569-1577, 2003.

VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J. da C.; VAZ, F.A.; SALES, M.F.L. **Produção de mudas de *Arachis pintoi* cv. Belmonte no Acre**. Rio Branco. EMBRAPA Acre, Instruções Técnicas, 2000, n° 33. 4p.

WILKINSON, K. M.; ELEVITCH, C. R. Biological nitrogen fixation. The Overstory Agroforestry Journal. <http://www.overstory.org>. Em 14.01.2004.

ZONTA, E.; BRASIL, F.C.; GOI, S.R.; ROSA, M.M.T. O sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006, p.7-53.

2 CAPÍTULO I.

EFICIÊNCIA DA INOCULAÇÃO DE ESTIRPES DE RIZÓBIO EM PLÂNTULAS DE *Arachis pintoi* PROPAGADAS VEGETATIVAMENTE.

2.1 RESUMO

A leguminosa *Arachis pintoi* apresenta-se como uma opção para recuperação de pastagens degradadas devido ao seu potencial de fixação biológica de nitrogênio. Para uma resposta eficiente em termos de fixação de nitrogênio é de primordial importância não só o uso de cultivares comercialmente disponíveis, mas também o uso de estirpes capazes de nodular e fixar nitrogênio de modo a permitir o desenvolvimento das plantas em condições adversas, viabilizar o rápido crescimento da leguminosa utilizada em consórcio e conseqüente redução no custo de produção.

Os resultados mostraram que as respostas às estirpes testadas variaram de acordo com os parâmetros analisados e cultivares/acesso. A existência de nodulação em todos os tratamentos inclusive na testemunha sem inoculação, mostrou que existiam estirpes nativas no solo utilizado compatíveis com as cultivares e acesso testados.

A inoculação das estirpes CIAT-5067, CIAT-5083 e CIAT-5087 nas cultivares/acesso testados indicou que na cultivar Belmonte as estirpes CIAT-5083 e CIAT-5067 promoveram um aumento no número de nódulos. Neste caso as estirpes se classificaram como muito efetivas. Para a cv Amarillo observou-se que as estirpes inoculadas tiveram a mesma efetividade que os rizóbios nativos. A estirpe CIAT-5083 foi classificada como efetiva e a CIAT-5067 e CIAT-5087 como muito efetivas. As estirpes CIAT-5067 e CIAT-5083 foram efetivas na nodulação de estacas do acesso BRA-031534.

A estirpe 1432 foi classificada como muito efetiva para as cultivares e acesso e a BR-1433 foi efetiva para Amarillo e Belmonte e muito efetiva para BRA-031534. Em relação aos parâmetros estudados neste experimento a cv Belmonte foi superior à cv Amarillo e ao acesso BRA-031534.

Para o estudo das cultivares e acesso com as estirpes BR-1432, BR-1433 e CIAT-5087 observaram-se aumentos significativos nos nódulos da cv Belmonte e esta cv mostrou acréscimos em todos os parâmetros estudados em relação ao Amarillo e BRA. As estirpes se classificaram como efetivas para cultivar Amarillo e muito efetivas para cultivar Belmonte e para o acesso BRA-031534.

Palavras Chave: *Arachis pintoi*, nodulação, fixação biológica de nitrogênio.

2.2 ABSTRACT

The leguminous *Arachis pinto* is presented as an option for recuperation of degraded pastures due to its potential for biological nitrogen fixation. For an efficient response in nitrogen fixation, it is important the use of commercially tested cultivars and also the use of strains that are able to nodulate and fix nitrogen in order to allow plant development in adverse conditions, make possible the fast growth of the leguminous and consequent reduction in the cost of production.

The studies had shown that the responses to the tested strains varied according to the parameters analyzed and cultivars/access. The existence of nodulation in all the treatments also in the control without inoculation showed the presence of native strains in the soil that were compatible with the cultivars and inbred tested.

Inoculated strains CIAT-5067, CIAT-5083 CIAT-5087 in tested cultivars/access indicated that in Belmont cultivar, the strains CIAT-5083 e CIAT-5067 promoted an increase in nodules number. In this experiment, the strains were classified as effective. It was observed that for Amarillo cv., the inoculated strains had the same effectiveness as the native rhizobia. Strain CIAT-5083 was classified as effective and CIAT-5067 and CIAT-5087 as very effective. Results obtained with BRA-031534 inbred, showed that strains CIAT-5067 and CIAT-5083 were effective in the process of nodulation.

Strains BR-1432 e BR-1433 inoculation in tested cultivars and accession, indicates that strain 1432 was classified as very effective for cultivars and acesion, and that BR-1433 was effective to Amarillo and Belmonte and very effective to BRA-0131534. Regarding the parameters studied in this experiment Belmonte cultivar had the best performance when compared with Amarillo cv. and BRA-031534 inbred.

In order to study cultivars and inbred with strains BR-1432, BR-1433 e CIAT-5087, significant increases in nodules of Belmonte cv. had been observed. This cultivar also showed an increase in all parameters studied regarding Amarillo and BRA. The strains were classified as effective for the Amarillo cultivar and very effective to Belmonte cultivar and BRA-031534 inbred.

Key words: *Arachis pinto*, nodulation, biological nitrogen fixation.

2.3 INTRODUÇÃO

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é uma das funções mais importantes do sistema solo-planta, para manutenção da vida na terra. A fixação biológica de nitrogênio é restrita a algumas espécies de bactérias, sendo que algumas são capazes de estabelecer simbiose com as leguminosas.

Esta é uma associação bem eficiente para algumas espécies como a soja. O nitrogênio fixado nos plantios de soja no Brasil é de aproximadamente $2 \times 10^6 \text{ mg.N.ano}^{-1}$ e isto representa uma economia de US\$2,0 bilhões para a economia brasileira (Moreira et al, 2006).

A associação simbiótica leguminosa-rizóbio consiste na capacidade das leguminosas em permitir a infecção de suas raízes por bactérias promovendo a fixação biológica de nitrogênio, que apresentam especificidade em relação ao hospedeiro. No processo de infecção ocorre a formação de nódulos nas raízes, formados por células vegetais contendo células bacterianas que se diferenciam e se multiplicam (Nascimento, 1998), porém todos os rizóbios apresentam especificidade hospedeira, variando entre muito e pouco específico (Mutch & Young, 2004).

A maneira como o rizóbio infecta a raiz de *Arachis* sp., é bastante incomum, com a penetração ocorrendo através do local onde as raízes adventícias emergem, provavelmente devido a modificações na parede celular que permitem esta infecção (Sprent & Sprent, 1990), e os nódulos em *Arachis pintoii* podem ser observados freqüentemente emergindo em estolões nas axilas das raízes adventícias (Thomas, 1994). Sprent et al (1988) citados por Thomas (1994) sugerem que este modo de infecção pode conferir grande resistência a estresse como a salinidade, quando comparada com espécies infectadas via pêlo radicular.

Porém, antes de penetrar na raiz a bactéria deve colonizar a superfície da raiz, o que envolve pelo menos 4 estágios que são: a) movimento em direção a raiz, b) reconhecimento, c) adesão, d) fornecimento pela planta de nutrientes para o endofítico (Sprent et al 1988).

Os rizóbios podem nodular a planta através do cordão de infecção, que tem o início do processo caracterizado pela liberação de compostos químicos das células radiculares como flavonóides e isoflavonóides que são responsáveis pelo reconhecimento do hospedeiro pela bactéria e induzem a formação do nódulo. Em seguida a bactéria secreta os fatores nod que estimulam a curvatura dos pêlos radiculares e a invasão da raiz e a formação de um cordão de infecção formado pelas células das raízes em resposta à infecção (Reis et al, 2006), e que podem ser especificadas do seguinte modo: a) multiplicação do rizóbio na superfície (ou próxima); b) adesão do rizóbio à superfície do pêlo radicular; c) ramificação e enrolamento do pêlo radicular; d) formação do cordão de infecção (no pêlo radicular); e) iniciação do nódulo: formação do meristema do nódulo, desenvolvimento do nódulo e diferenciação; f) bacteróides liberados do cordão de infecção; g) diferenciação bacteriana; h) início da fixação de nitrogênio; i) funções bioquímicas e fisiológicas (complementares) associadas com a fixação de nitrogênio; j) manutenção das funções dos nódulos, (Sprent & Sprent, 1990).

Na raiz da leguminosa *Mendicago trunculata* foi identificada a expressão de mais de cem genes com funções conhecidas e desconhecidas no processo de infecção no período de 72 horas após a inoculação com *Sinorhizobium meliloti* (Lohar et al, 2006).

Segundo Pinkerton & Skipper (1992), três situações podem ocorrer no processo de nodulação:

- a) Falta de nodulação: nenhuma estirpe de rizóbio presente no solo é capaz de nodular, conseqüentemente nenhum nódulo é formado.
- b) Nodulação inefetiva: o local de nodulação é ocupado pelo rizóbio, mas não há fixação de nitrogênio, e neste caso o rizóbio extrairá carbono e até mesmo nitrogênio da planta hospedeira.

c) Nodulação efetiva: há formação do nódulo e fixação de nitrogênio.

Okito et al (2004), verificaram que o cultivo de amendoim *Arachis hypogaea* L. pode fornecer quantidades significativas de nitrogênio derivado da fixação biológica de nitrogênio para culturas estabelecidas posteriormente em solos de baixa fertilidade.

Em *Arachis pintoii* estolões podem ser inoculados com rizóbio imediatamente antes do plantio, e as plantas que sofrem este processo de inoculação apresentam boa quantidade de nódulos, com a fixação biológica do nitrogênio atmosférico ocorrendo, pelas bactérias presentes na maioria dos solos tropicais (Lima et al 2004; Asakawa & Ramirez, 1989). Em Seropédica-RJ, Soares et al (2006) estudando os acessos *Arachis pintoii* 31823 e 34496, verificaram que 75% da produção de matéria seca foi dependente da fixação biológica de nitrogênio. Na Costa Rica (Colômbia) observou-se que sob pastejo e em consórcio com *Cynodon lemfiuensis* a proporção de 80% era de nitrogênio derivado da fixação biológica. Na Bahia também se encontrou alta taxa de nitrogênio derivada da fixação biológica (Villalobos et al, 1999).

O *Arachis pintoii* em solos ácidos de baixa fertilidade, tem o seu processo de fixação dependente do crescimento e da persistência que esta leguminosa apresentar no solo (Thomas et al, 1997). Nodula com população nativa de rizóbio do solo, mas responde bem à inoculação com estirpes de rizóbio selecionadas, produzindo maior quantidade de matéria seca e acumulando maiores valores de nitrogênio na parte aérea (Purcino et al, 1999). A inoculação é importante para estabelecimento de *Arachis pintoii* em solos degradados, fixando o equivalente a 60 kg.ha⁻¹ de nitrogênio (Purcino et al, 2006). apresentando um número elevado de nódulos e um alto conteúdo de nitrogênio (Abreu, 1996). Contudo em alguns trabalhos, não foi encontrada resposta à inoculação; a cultivar Amarillo e os acessos CIAT-18744 e CIAT-18748 não mostraram respostas aos efeitos da inoculação no período de seis meses (Vargas-Patiño, 1996). Purcino & Elkan, (2000) também verificaram que na cultivar Amarillo, nenhuma das estirpes testadas em relação à produção de matéria seca obteve produção comparável ao tratamento que recebeu nitrogênio.

Oliveira Junior (1997), observou que as estirpes nativas de *Arachis pintoii* com alta capacidade de fixação de nitrogênio superaram as estirpes comerciais indicadas para esta leguminosa e o tratamento controle com nitrogênio mineral, o que leva a indicar a necessidade de estudos de avaliação e seleção de estirpes nativas do solo. Porém Oliveira et al (1998), observaram em seus estudos visando a seleção de estirpes em *Arachis pintoii*, que o parâmetro número de nódulos tem pouca importância e as estirpes testadas proporcionaram ganhos iguais à testemunha nitrogenada.

Em *Arachis pintoii*, Miranda et al (2003) considera o BRA-31534 um acesso promissor com taxa de fixação acima de 74% com estirpes nativas do solo e sua produção de massa seca correlacionada com o nitrogênio derivado da fixação biológica de nitrogênio. Para Lanier et al (2005) o processo de inoculação em *Arachis hypogaea* é necessário quando não houver estirpe nativa do amendoim presente no solo.

Em duas variedades de *Arachis hypogaea* L. (criollo e florunner) não ocorreu resposta significativa à inoculação com estirpes de *Bradyrhizobium* sp. quando comparada à testemunha em dois tipos de solo da Costa Rica (Gutiérrez-Rosales, 1992). Colombo-Júnior et al (2004) avaliando os efeitos da inoculação em *Arachis hypogaea* L. em condições de campo, observaram que o número de nódulos e a massa seca da parte aérea não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos com e sem inoculação. Castro (1999) verificou que a estirpe (USDA 3187), inoculada em amendoim (*Arachis hypogaea* L.) não foi competitiva em relação às estirpes nativas, em relação ao peso seco do nódulo e biomassa seca da planta.

Nambiar et al, (1984) verificaram que a combinação correta entre hospedeiro e estirpe produziu aumento na produção de frutos no amendoim (*Arachis hypogaea* L.) em cultivo por

várias estações. Lamas et al (2000) observaram que o amendoim (*Arachis hypogaea* L.) independente da adição de inoculante apresentou uma ocorrência generalizada de nódulos demonstrando a presença de estirpes nativas de rizóbio no solo. Porém a estirpe inoculada apresentou maior habilidade competitiva e demonstrou maior eficiência simbiótica que as estirpes nativas. A adição de adubo nitrogenado, mesmo em pequena dose, reduziu a produtividade provavelmente pelo efeito inibitório na nodulação e fixação de nitrogênio.

O estabelecimento do rizóbio no solo depende de fatores tão diversos como a natureza química e física do solo, temperatura e disponibilidade de água, microflora, composição da flora de leguminosas e não leguminosas, e o melhor conhecimento destes fatores resultam em tecnologias que permitem sucesso na seleção de estirpes (Neves & Rumjaneck, 1996).

Sung & Sun (1990) avaliaram a relação entre a redução do nitrato e a fixação biológica de nitrogênio em duas cultivares de amendoim *Arachis hypogaea* L. Eles observaram que a redutase do nitrato na folha diminuiu rapidamente após o florescimento, e a atividade de fixação de nitrogênio nos nódulos da raiz aumentou alcançando o máximo no ponto de enchimento da vagem. Eles concluíram que a reciprocidade entre a redução do nitrato e fixação de nitrogênio, indica um importante papel na assimilação de nitrogênio no desenvolvimento da planta do amendoim após o florescimento.

Venkateswarlu, et al (1991) verificaram que em condições tropicais com temporada de crescimento reduzido e período seco freqüente ao final do ciclo de crescimento, as variedades de amendoim Valencia e Spanish Brunch que apresentam maior fixação e acumulação de nitrogênio antes da floração e são mais eficientes na distribuição de nitrogênio para as partes reprodutoras podem dar maiores rendimentos em sementes que as variedades do tipo Virginia que apresentam uma maior acumulação de nitrogênio total, porém uma distribuição de nitrogênio menos eficaz.

Neste capítulo os experimentos de eficiência de inoculação, foram realizados com o objetivo de estudar a eficiência do processo de inoculação de rizóbio em *Arachis pintoi* multiplicados vegetativamente.

Os experimentos envolvendo as duas cultivares e o acesso foram realizados em épocas diferentes devido à dificuldade inicial de obtenção de material para propagação e conseqüente produção nas condições ambientais de Seropédica. Após a obtenção dos estolões, este material foi ainda multiplicado para posterior utilização nos experimentos.

As estirpes utilizadas neste experimento foram isoladas de *Arachis pintoi* no município de Brasiléia-Acre-Brasil, com os números Brasil-20; 401B-4 e 400-401A2, e após serem encaminhadas ao CIAT-Colômbia onde receberam a denominação de CIAT-5067; CIAT-5083 e CIAT-5087 foram enviadas para a coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia localizada em Seropédica-RJ. Durante o desenvolvimento dos estudos de Tese foram indicadas duas estirpes para *Arachis pintoi*: a BR-1432 e BR-1433, que cedidas pela EMBRAPA Agrobiologia foram incorporadas aos estudos que se encontrava em andamento.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Com o objetivo de obtenção de material para a propagação vegetativa das cultivares (Amarillo, Belmonte) e do Acesso BRA-031534, foram plantadas sementes da cultivar Amarillo em uma área de 120m² em condições de campo. O material para propagação vegetativa da cultivar Belmonte foi obtido de uma área de 98m² em condições de campo cultivada com estolões da cultivar Belmonte, cedidos como cortesia pelo Centro de Pesquisas do Cacau/CEPLAC-Bahia. Os plantios foram realizados em área pertencente ao Departamento de Fitotecnia - Instituto de Agronomia localizado em Seropédica - Rio de Janeiro, do qual foram retiradas estacas para esse experimento.

As sementes do acesso BRA-031534, foram cedidas pela EMBRAPA/Centro de Pesquisas Agroflorestais-Acre, porém devido à pequena quantidade de sementes recebidas, essas sementes foram multiplicadas em canteiro nas condições de casa de vegetação, para posterior fornecimento de material vegetativo para a condução dos experimentos.

O solo (tipo Planossolo) utilizado para o enchimento dos potes, foi retirado da camada superficial (0-20 cm) com características químicas descritas na Tabela 1. Após a secagem, o solo foi peneirado, e acondicionado em pote plástico com furo (2,0 kg de solo/pote).

Tabela 1 Resultado da análise de solo.

Tipo de Solo	pH	Cmol _c .dm ³				mg.dm ³	
		Al	Ca+Mg	Ca	Mg	P	K
Arenosa	5,8	0,0	1,8	0,9	0,9	16	113

O plantio foi feito com estacas cortadas de aproximadamente 20cm de comprimento e plantado na profundidade de 10cm em cada vaso.

Foram utilizadas adubações complementares com solução nutritiva, conforme descrito em GOI (1981), e especificadas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 Composição química da solução com Micronutrientes + Mg (Goi, 1981).

Composto	Concentração (g.L ⁻¹)	Concentração dos micronutrientes + Mg/ kg de solo
MgSO ₄ .7H ₂ O	150,000	0,150000g
CuSO ₄ .5H ₂ O	15,800	0,015800g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,308	0,008308g
H ₃ BO ₃	0,500	0,000500g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,500	0,000500g
FeSO ₄ .7H ₂ O	20,000	0,020000g
Ácido Cítrico	20,000	0,020000g

Tabela 3 Composição química da solução com Macronutrientes (Goi, 1981).

Composto	Concentração g.L ⁻¹	Concentração dos macronutrientes / kg de solo
KH ₂ PO ₄	35	0,035g
CaCl ₂ .2H ₂ O	150	0,150g

As plantas foram mantidas em casa de vegetação com luz natural durante todo o experimento e irrigadas de modo a manter a umidade próxima à capacidade de campo durante todo o experimento.

Os estolões foram inoculados com uma suspensão de células (2,0mL de meio de cultura semi-sólido em cada estaca), de rizóbio previamente selecionados para *Arachis pintoi* no CIAT-Colômbia e EMBRAPA, cedidos para a Coleção de Culturas da EMBRAPA Agrobiologia.

As estirpes foram crescidas no meio de cultura para crescimento de *Rhizobium* (Vincent, 1970), conforme tabela abaixo:

Tabela 4 Meio de cultura para crescimento de *Rhizobium* sp.

Componentes	Quantidade
Manitol	10,00 g.L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	0,1 g.L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	0,4 g.L ⁻¹
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,20 g.L ⁻¹
NaCl	0,1g.L ⁻¹
Extrato de levedura	1,00 mL.L ⁻¹
Azul de bromotimol (solução alcoólica 0,5%)	5,00 mL.L ⁻¹
Agar	1,75g
Água destilada	1,00 L

O volume de um litro teve o seu pH ajustado em 6,8-7,0 com NaOH 100mM e as estirpes foram retiradas da cultura pura, inoculada no meio de cultura, e mantidas por cinco dias a 28°C para multiplicação.

As plantas foram colhidas aos setenta dias após o plantio e estimadas: Comprimento da parte aérea, comprimento da raiz principal, peso da massa seca da raiz, peso da massa seca da parte aérea, peso da massa seca dos nódulos, número de nódulos, eficiência relativa (Efr): obtida pela relação entre a massa seca da parte aérea de plantas inoculada e a massa seca da parte aérea do tratamento com nitrogênio.

A eficiência de fixação de nitrogênio foi feita de acordo com a fórmula sugerida por Date et al (1993) citada por Oliveira Junior et al (1997) e Purcino & Elkan, (2000).

$$\text{Efr} = \frac{\text{Massa seca da parte aérea inoculada}}{\text{Massa seca da parte aérea com nitrogênio}} \times 100$$

Foi usada a relação:

Inefetiva - Eficiência relativa menor que 35%.

Pouco efetiva - Eficiência relativa entre 35% e 50%.

Efetiva - Eficiência relativa entre 50% e 80%.

Altamente efetiva - Eficiência relativa acima de 80%.

O peso seco foi determinado com uso de balança de precisão, modelo Marte, realizado após a secagem por 72 horas em estufa de circulação de ar marca Biomatic, a 68°C; e os comprimentos da parte aérea e da raiz foram feitos utilizando régua milimetrada.

Os experimentos para avaliar a eficiência das estirpes em plântulas de *Arachis pintoi* cultivar Amarillo foram conduzidos no ano de 2004 no período de abril a junho com uma temperatura média no período experimental de 22,6°C e a umidade relativa média de 73%, os estudos para a cultivar Belmonte realizaram-se no período de junho a agosto com uma temperatura média no período foi de 21°C, e a umidade relativa do ar média foi de 73% e o experimento com o acesso BRA-031534 foi conduzido de outubro a dezembro com uma temperatura média no período experimental foi de 24,5°C e a umidade relativa média de 64,3%. Os estudos foram conduzidos em casa de vegetação.

Para se testar a normalidade da distribuição dos erros foi utilizado o teste de Lilliefors e a homogeneidade da variância dos erros foi verificada pelos testes de Cochran e Bartlett. Quando necessário utilizou-se a transformação $\sqrt{x + 1}$, para promover uma distribuição normal entre os erros. Para comparação de médias dos tratamentos, foi adotado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Gomes, 1990). As análises foram realizadas com uso dos softwares SAEG, STATGRAPHICS version 5 e SISVAR.

2.4.1 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio CIAT-5067; CIAT-5083; CIAT-5087 em plântulas de *Arachis pintoi*, propagadas vegetativamente

O experimento foi conduzido em delineamento com blocos ao acaso com os seguintes tratamentos: T₁ - Plantas sem inoculação e sem adição de nitrogênio (Testemunha); T₂ - Inoculação com a estirpe CIAT-5067 (BR-1407); T₃ - Inoculação com a estirpe CIAT-5083 (BR-1414); T₄ - Inoculação com a estirpe CIAT-5087 (BR-1418); T₅- Testemunha com nitrogênio (20mg-N por planta como NH₄NO₃), com cinco repetições.

Os experimentos para avaliar a eficiência das estirpes em plântulas da cultivar Amarillo foram conduzidos no ano de 2004 no período de abril a junho com uma temperatura média no período experimental de 22,6°C e a umidade relativa média de 73%, os estudos para a cultivar Belmonte realizaram-se no período de junho a agosto com uma temperatura média no período foi de 21°C, e a umidade relativa do ar média foi de 73% e o experimento com o acesso BRA-031534 foi conduzido de outubro a dezembro com uma temperatura média no período experimental foi de 24,5°C e a umidade relativa média de 64,3%.

2.4.2 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio BR-1432, BR-1433 e CIAT-5087 em plântulas de *Arachis pintoi*, propagadas vegetativamente

Os experimentos para avaliar a eficiência das estirpes em plântulas da cultivar Amarillo, cultivar Belmonte e acesso BRA-031534 foram conduzidos em casa de vegetação, com delineamento experimental de blocos ao acaso com cinco repetições no ano de 2005, para as estirpes BR-1432 e BR-1433 no período de fevereiro a maio, com a temperatura média no período de 26°C e a umidade relativa média de 63%, e os seguintes tratamentos: T₁ - Plantas sem inoculação e sem adição de nitrogênio (testemunha); T₂ - Inoculação com a estirpe BR-1432; T₃ - Inoculação com a estirpe BR-1433; T₄ - Testemunha com nitrogênio (20mg-N como NH₄NO₃ por planta). Para as estirpes BR-1432, BR-1433 e CIAT-5087 (BR-1418), de outubro a dezembro com uma temperatura média no período foi de 22,6°C e a umidade relativa média de 73%, e os seguintes tratamentos: T₁ - Plantas sem inoculação e sem adição de nitrogênio (testemunha); T₂ - Inoculação com a estirpe BR-1432; T₃ - Inoculação com a estirpe BR-1433; T₄ - Inoculação com a estirpe CIAT-5087 (BR-1418); T₅ - Testemunha com nitrogênio (20mg-N como NH₄NO₃ por planta).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio em plântulas da cv. Amarillo propagadas vegetativamente

A nodulação em todos os tratamentos inclusive na testemunha sem inoculação mostrou que existiam estirpes nativas de rizóbio no solo compatíveis com o *Arachis pinto* (Figura 1). Porém deve-se observar que a inoculação com as estirpes estudadas torna-se importante devido à possibilidade das estirpes nativas não se encontrarem na área cultivada ou não apresentarem eficiência esperada. Esta nodulação com estirpes nativas de *Arachis pinto* também foi observada por Purcino et al (1999). Oliveira-Junior et al (1997), verificaram ainda, que as estirpes nativas apresentavam alta capacidade de fixação de nitrogênio, superando as estirpes comerciais indicadas para esta leguminosa e o tratamento controle com nitrogênio.

Em relação ao número de nódulos e peso da massa seca dos nódulos, observou-se que a adubação nitrogenada não inibiu a nodulação e não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 1), embora a estirpe CIAT-5067 (BR-1407) tenha apresentado uma tendência para aumento no peso da massa seca do nódulo (Figura 2) quando comparada às outras estirpes. A estirpe CIAT-5087 (BR-1418) apresentou uma tendência a um menor número de nódulos, quando comparada às outras estirpes, e todas as estirpes testadas apresentaram uma tendência para formação de um maior número de nódulos que o tratamento com nitrogênio (Figura 1).

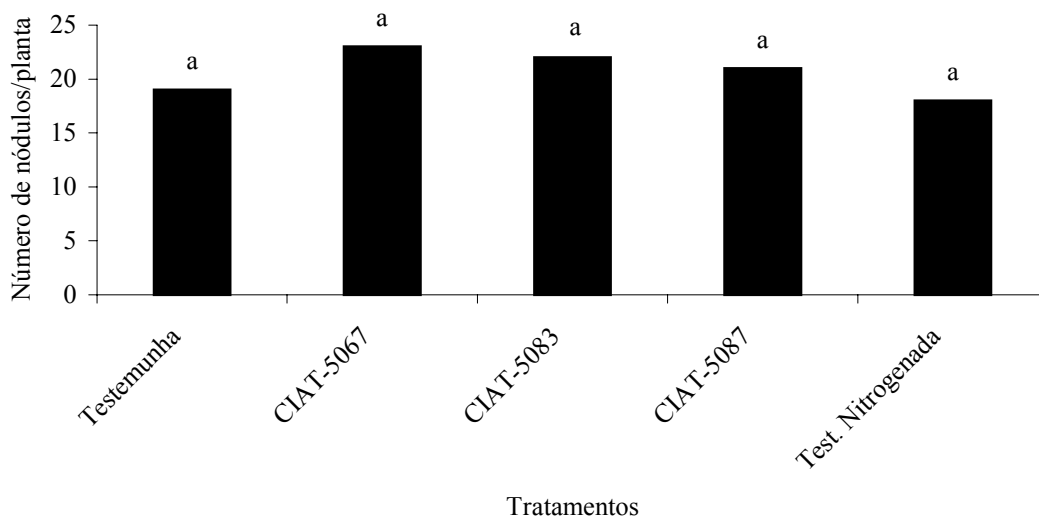


Figura 1 Número de nódulo na raiz de *Arachis pinto* cv. Amarillo propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=43%.

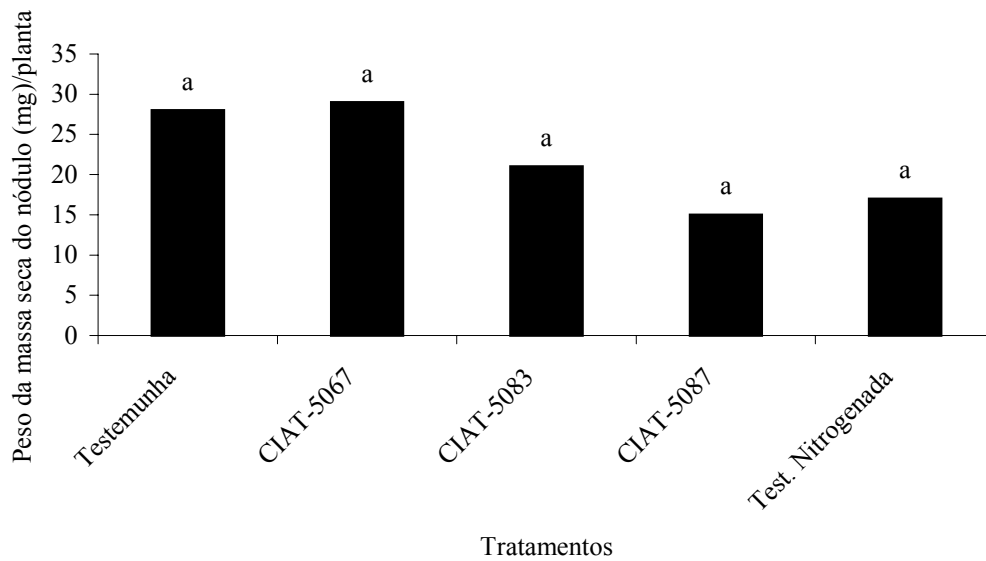


Figura 2 Peso da massa seca de nódulo na raiz de *Arachis pinto* cv. Amarillo propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=39%.

O peso da massa seca da raiz e da parte aérea, mostraram que a estirpe CIAT-5083 (BR-1414) não apresentou um bom desempenho em relação às estirpes CIAT-5067 (BR-1407) e CIAT-5087 (BR-1418) (Figura 3 e 4), apesar de não diferirem significativamente.

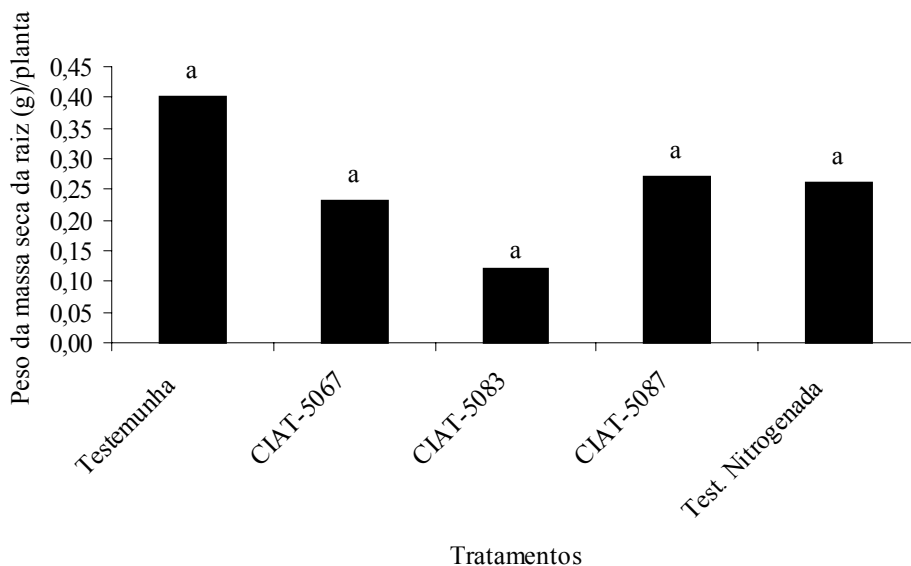


Figura 3 Peso da massa seca da raiz de *Arachis pinto* cv. Amarillo propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=53%.

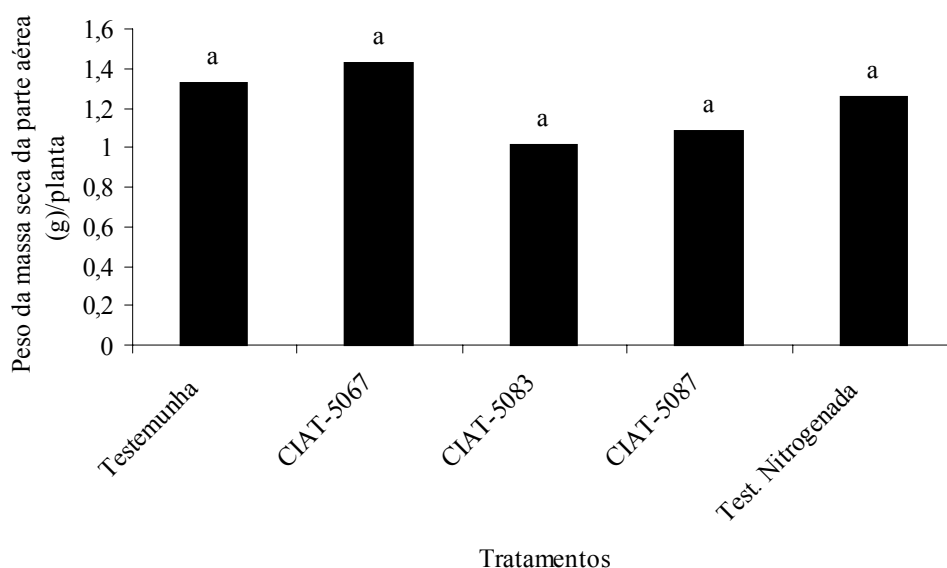


Figura 4 Peso da massa seca da parte aérea de *Arachis pintoi* cv. Amarillo propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5%. CV=39%.

O comprimento da parte aérea e o comprimento da raiz, também não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos estudados (Figura 5 e 6). Alguns trabalhos realizados anteriormente também indicaram a ausência de resposta à inoculação. Vargas-Patiño (1996) estudando os acessos de *Arachis pintoi* CIAT-17434; CIAT-18744 e CIAT-18748 não observaram resposta à inoculação com as estirpes testadas. Do mesmo modo Gutiérrez-Rosales (1992) e Colombo-Junior et al (2004) não observaram respostas significativas à inoculação em *Arachis hypogaea* L., Castro et al (1999) observou que a estirpe USDA 3187 inoculada em *Arachis hypogaea* L. não foi competitiva em relação ao peso seco de nódulos e a biomassa da planta. No estudo com seis cultivares de feijão feito por Pasqualini (2006) também não se observou resposta significativa em relação aos tratamentos estudados.

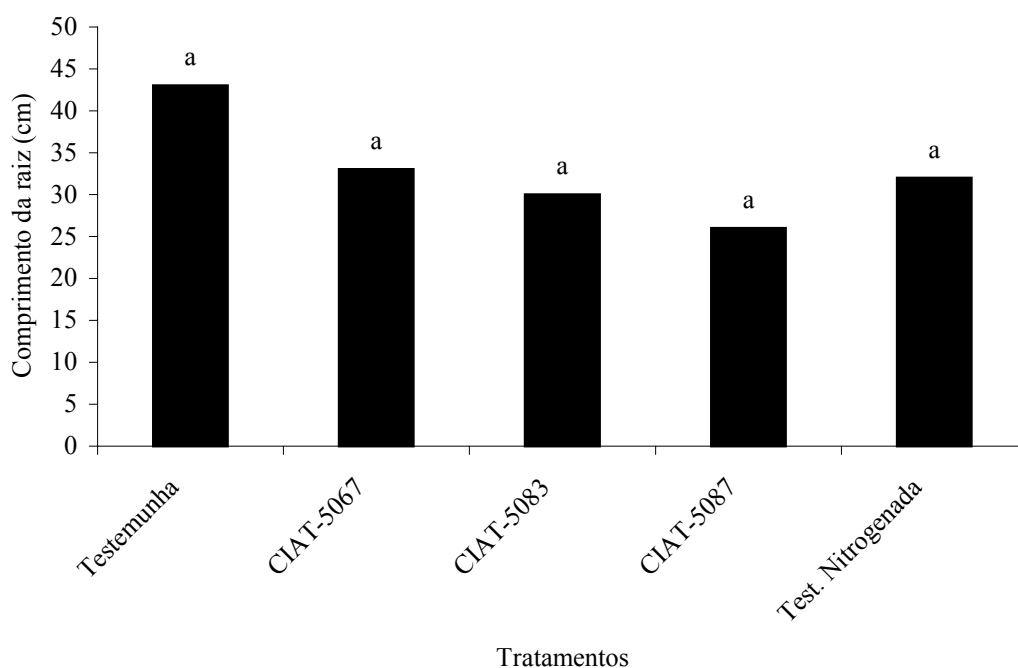


Figura 5 Comprimento da raiz de *Arachis pinto* cv. Amarillo propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=33%.

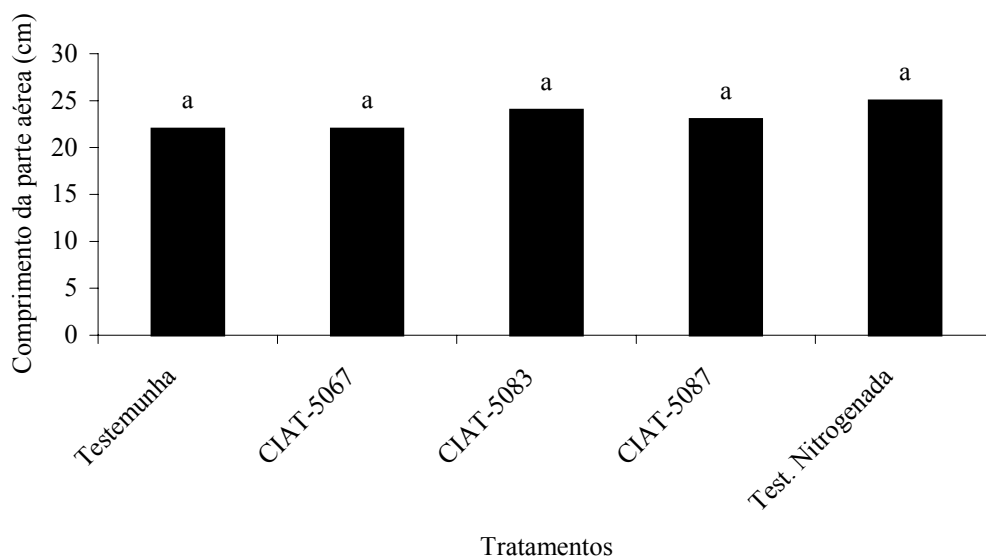


Figura 6 Comprimento da parte aérea de *Arachis pinto* cv. Amarillo propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=16%.

A eficiência da fixação biológica de nitrogênio segundo a fórmula sugerida por Date et al (1993), apresentou variação decorrente da inoculação na cv. Amarillo, propagadas vegetativamente, sendo duas estirpes classificadas como altamente efetivas e uma estirpe como efetiva. (Figura 7).

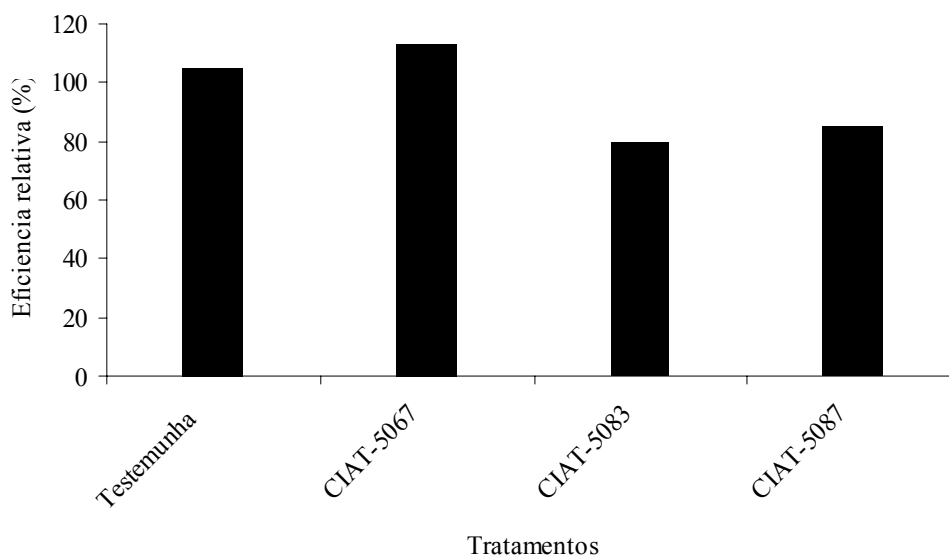


Figura 7 Eficiência relativa das estirpes inoculadas CIAT-5067 (BR-1407), CIAT-5083 (BR-1414) e CIAT-5087 (BR-1418) em plantas de *Arachis pintoi* cv. Amarillo propagadas vegetativamente.

2.5.2 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio em plântulas da cv. Belmonte propagadas vegetativamente.

A estirpe CIAT-5083 (BR-1414) promoveu um aumento significativo do número de nódulos em relação à testemunha nitrogenada, embora não tenham sido observadas diferenças significativas em comparação com as outras estirpes utilizadas. Este resultado está de acordo com outros trabalhos feitos anteriormente, e que tem demonstrado efeito deletério do nitrogênio na nodulação (Goi et al., 1992; Goi et al., 1997; e Inoue et al, 2006). Foi observada nodulação da testemunha, indicando a presença de estirpe nativa de rizóbio no solo, compatível com *Arachis pintoi* (Figura 8). O peso da massa seca de nódulos também foi influenciado pelos tratamentos de inoculação (Figura 9). A maior massa seca de nódulos foi encontrada no tratamento com a estirpe CIAT-5067 (BR-1407). A comparação dos dados das Figuras 8 e 9 demonstra que ocorreram também diferenças em relação ao tamanho dos nódulos produzidos pelas estirpes. Embora no tratamento com a estirpe CIAT-5083 (BR-1414) tenha sido encontrado o maior número de nódulos, o maior valor para a massa seca foi observado no tratamento com a estirpe CIAT-5067 (BR-1407).

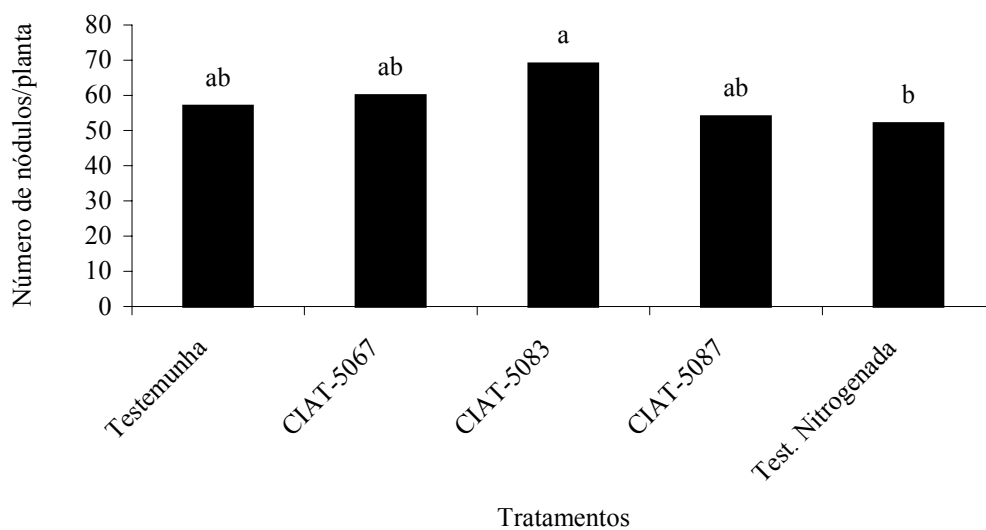


Figura 8 Número de nódulos na raiz de *Arachis pinto* cv. Belmonte propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pela DMS a 5%. CV=24%.

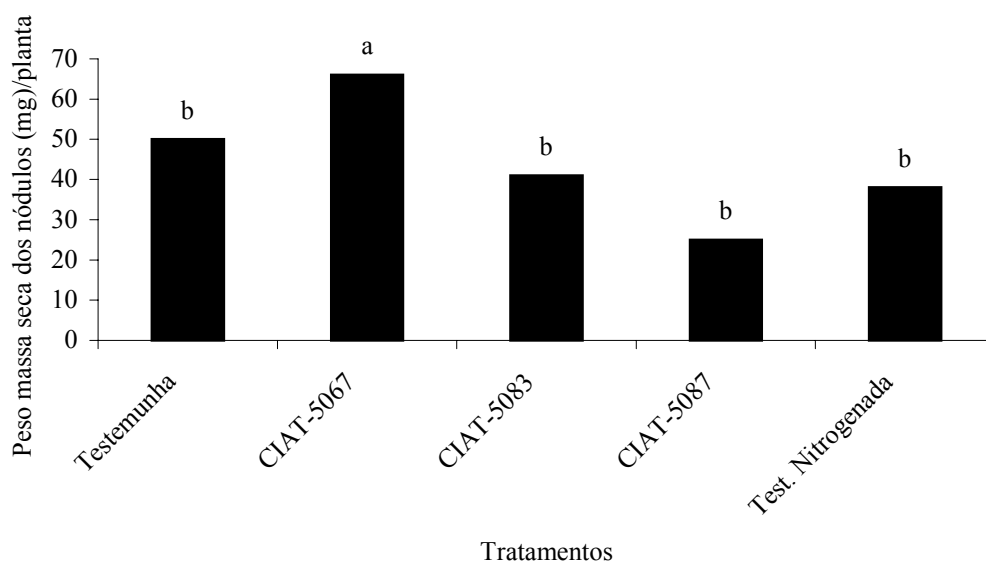


Figura 9 Peso da massa seca de nódulo de *Arachis pinto* cv. Belmonte propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pela DMS 5%. CV=35%.

O menor comprimento da raiz (Figura 12) e menor peso da massa seca da raiz (Figura 10), apesar de não diferirem significativamente, foram obtidos no tratamento testemunha nitrogenada, provavelmente pelo fato de haver nitrogênio disponível para o seu crescimento a planta não precisa investir muito no crescimento da raiz para exploração do substrato. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para o peso da massa seca da

parte aérea e raiz (Figura 10 e 11). Resultados sem diferenças significativas, semelhantes a estes, com as mesmas estirpes, foram encontrados para a cv. Amarillo propagadas vegetativamente (2.1.3), onde o aumento no peso de nódulos promovido pela estirpe CIAT-5067 (BR-1407) não promoveu um aumento no peso da massa seca da raiz e da parte aérea. No tratamento com nitrogênio (testemunha nitrogenada), foram observados os menores valores para comprimento e peso de raiz, indicando que no caso de ser considerado o enraizamento da estaca como um fator importante para o estabelecimento da planta, este não seria um bom tratamento. Além disso, a aplicação de nitrogênio mineral em pastagens consorciadas com leguminosas favorece o crescimento da gramínea, reduzindo a quantidade de leguminosas (Valentim et al., 2001). Outro fator importante a ser ressaltado neste trabalho é a capacidade desta espécie de nodular com estirpes nativas do solo, como já observado por outros autores (Salazar-Ângulo, 1994; Vargas-Patiño, 1996)

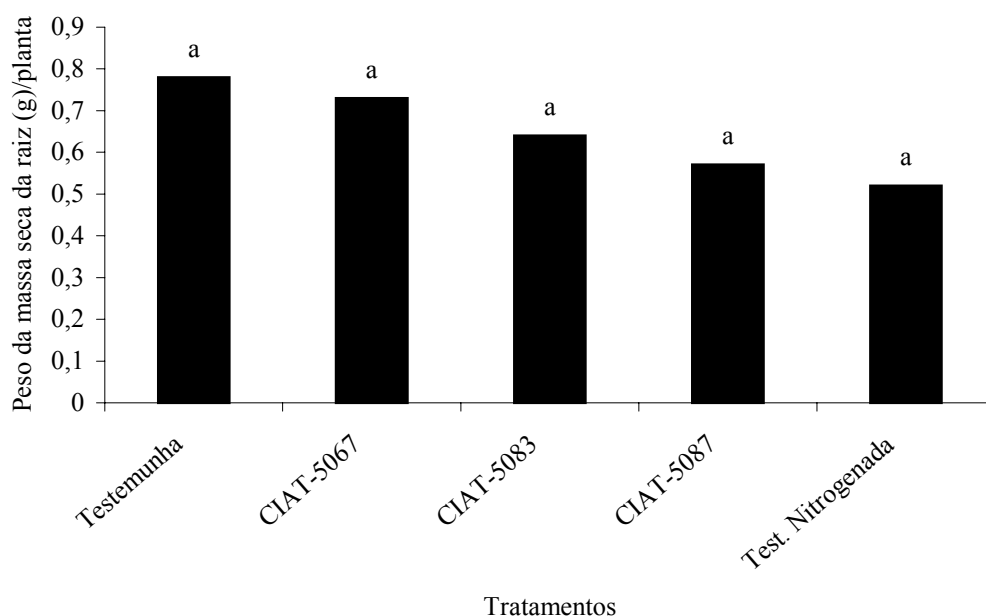


Figura 10 Peso da massa seca da raiz de *Arachis pinto* cv. Belmonte propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pela DMS a 5%. CV=6%.

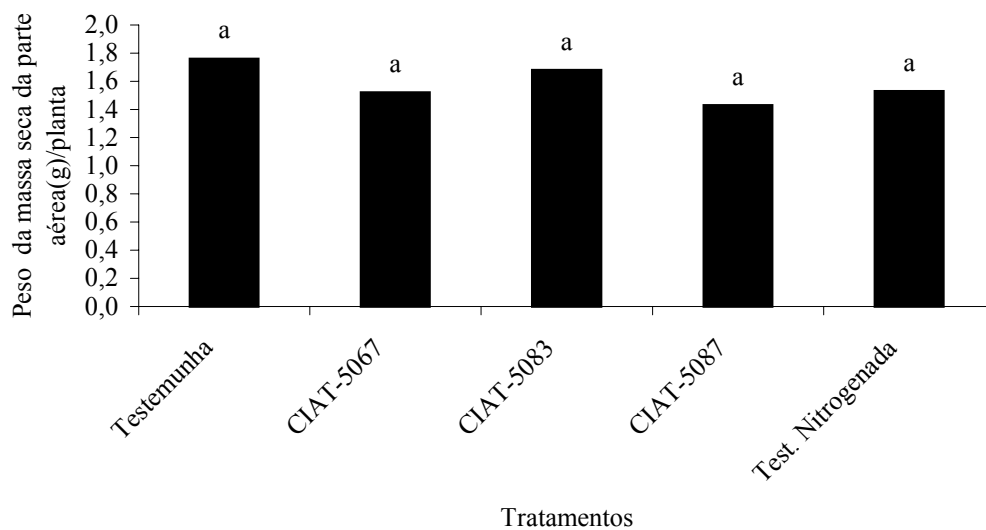


Figura 11 Peso da massa seca da parte aérea de *Arachis pintoi* cv. Belmonte propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pela DMS a 5%. CV=7%.

Para o comprimento da raiz, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos; contudo no tratamento com a estirpe CIAT-5067 (BR-1407) foi observado um aumento no comprimento da raiz (Figura 12). Para o comprimento da parte aérea, observa-se que a estirpe CIAT-5083 (BR-1414) foi estatisticamente inferior aos demais tratamentos, cita-se que houve um maior crescimento da parte aérea no tratamento inoculado com a estirpe CIAT-5087 (BR-1418) (Figura 13). Comparando os dados da Figura 12 e Figura 13, observa-se que durante o período experimental, ocorreu um crescimento maior da raiz do que da parte aérea sem reflexo no acúmulo de massa seca (Figura 10 e 11). Considerando que no momento do plantio, não havia nenhuma raiz na estaca, o crescimento observado da raiz, indica um investimento grande da planta no crescimento do sistema radicular, maior do que se for comparado à alocação de carbono de uma planta crescida a partir de uma semente.

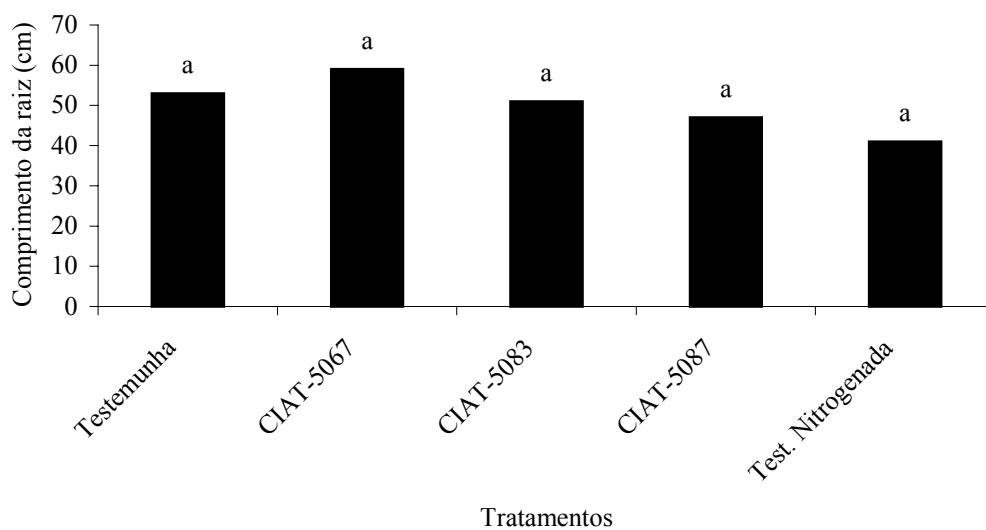


Figura 12 Comprimento da raiz de *Arachis pintoi* cv. Belmonte propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pela DMS a 5%. CV=10%.

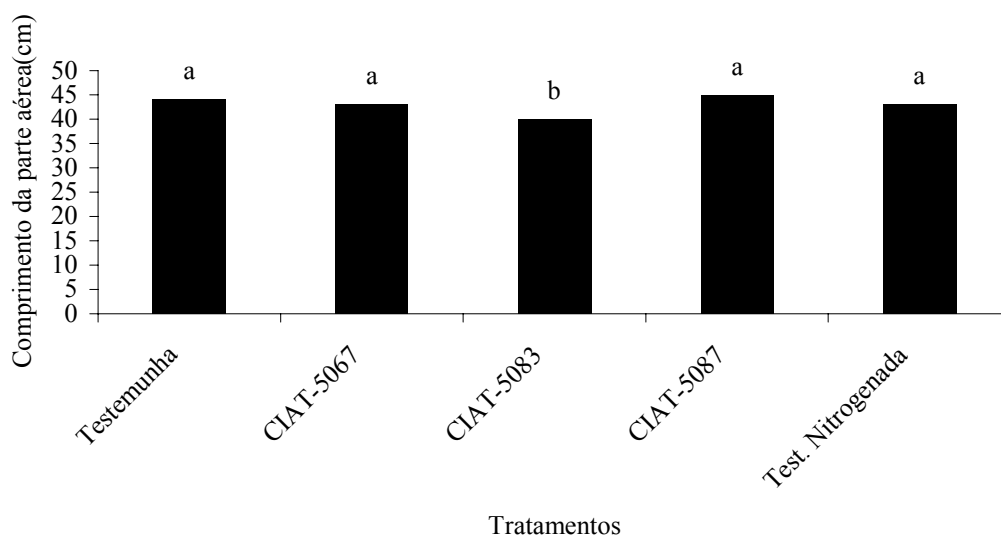


Figura 13 Comprimento da parte aérea de *Arachis pintoi* cv. Belmonte propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pela DMS a 5%. CV=3%.

Segundo a fórmula de eficiência relativa sugerida por Date et al (1993), as estirpes nativas e as (CIAT-5067 (BR-1407), CIAT-5083 (BR-1414) e CIAT-5087 (BR-1418)) inoculadas na cultivar Belmonte propagada vegetativamente, foram classificadas como altamente efetivas, (Figura 14), indicando que são capazes de fixar quantidades de nitrogênio, equivalentes à adubação nitrogenada.

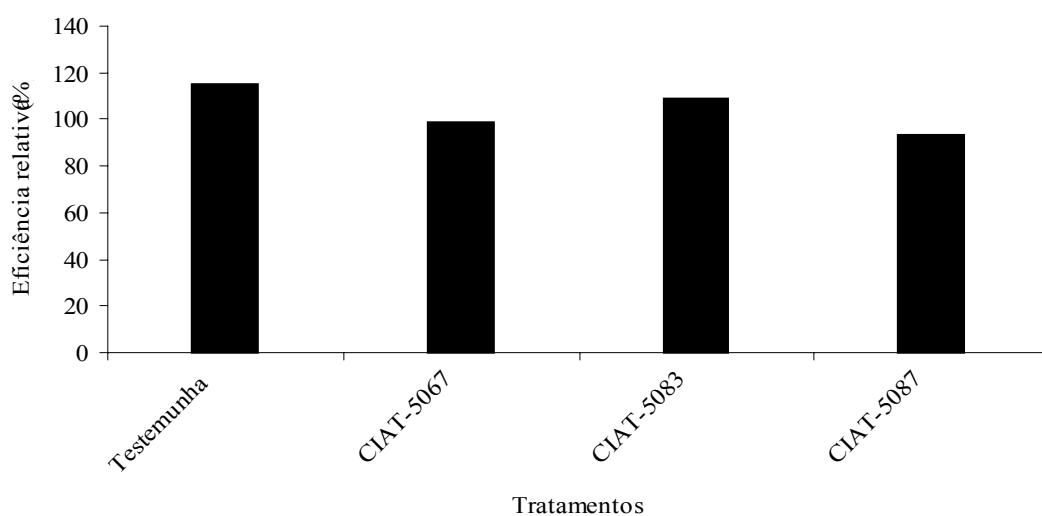


Figura 14 Eficiência relativa das estirpes inoculadas CIAT-5067 (BR-1407), CIAT-5083 (BR-1414) CIAT-5087 (BR-1418) em plantas de *Arachis pintoi* cv. Belmonte propagadas vegetativamente.

2.5.3 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio em plântulas do acesso BRA-031534, propagadas vegetativamente.

Com relação ao número de nódulos existentes, observou-se que o acesso BRA-031534 não apresentou nodulação nos tratamentos testemunha, estirpe CIAT-5087 (BR-1418), e no tratamento com nitrogênio. Observa-se nos tratamentos que apresentaram nodulação a formação de um reduzido número de nódulos (2 a 3 nódulos), o que demonstrou neste caso que provavelmente o acesso nodula pouco (Figura 15). No entanto, o valor para massa seca de nódulos foi maior no tratamento inoculado com a estirpe BR-1414 (Figura 16).

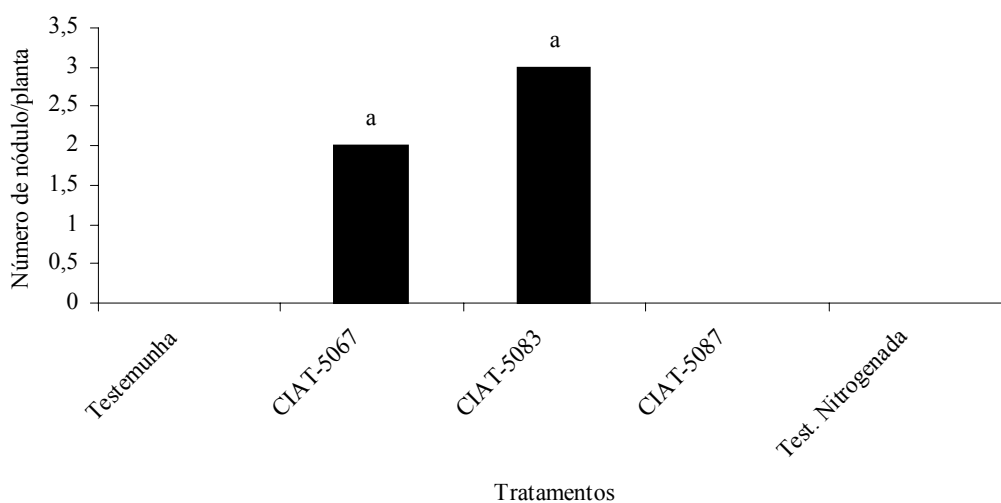


Figura 15 Número de nódulos na raiz de *Arachis pintoi* acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=50%.

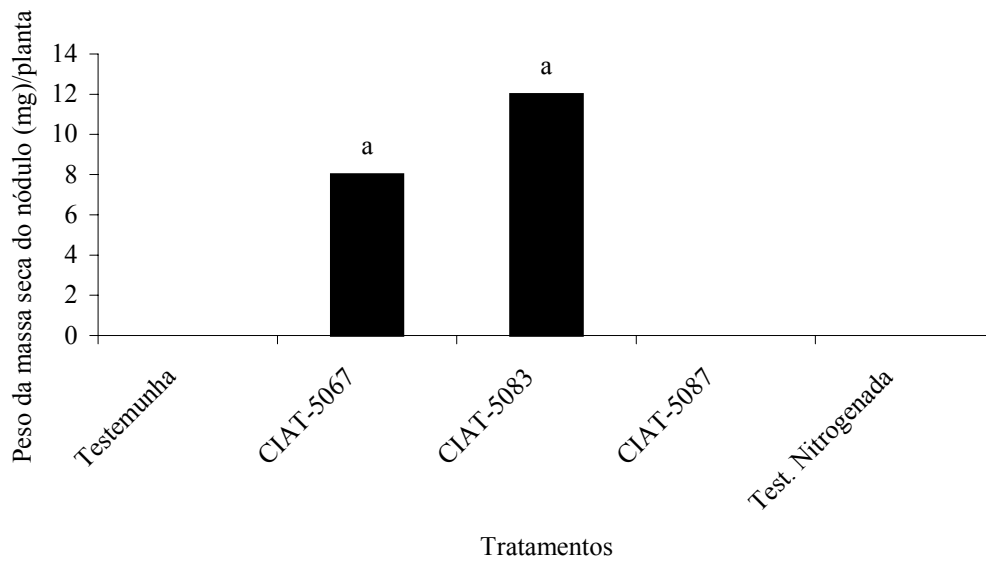


Figura 16 Peso da massa seca de nódulo de *Arachis pinto* acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=0,057%

Para comprimento de raiz não houve diferença significativa entre os tratamentos, porém, observou-se um maior desenvolvimento do sistema radicular para a testemunha (Figura 17).

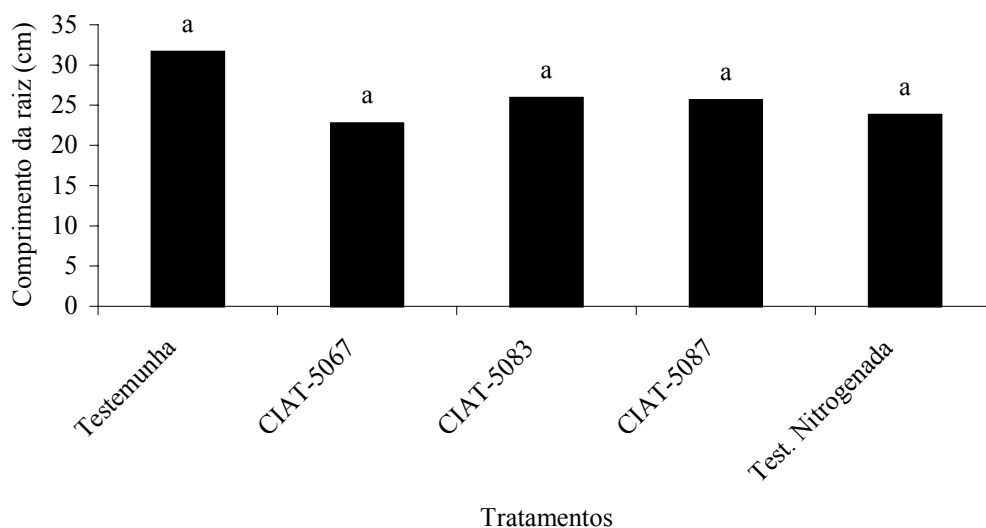


Figura 17 Comprimento da raiz de *Arachis pinto* acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=26%.

Com relação ao acúmulo da massa seca da raiz e da parte aérea entre as estirpes testadas com nodulação, observou-se que a estirpe CIAT-5083 (BR-1414) teve um melhor desempenho que a estirpe CIAT-5067 (BR-1407) (Figura 18 e 19), estes tratamentos estudados não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade. Esta ausência de significância em relação ao peso da massa seca da raiz foi uma tendência apresentada nos experimentos iniciais com as cultivares Amarillo e Belmonte. Estas respostas também foram verificadas em estudos realizados por Colombo-Junior et al (2004) com a estirpe Semia 6144 e Castro et al (1999) com a estirpe USDA 3187 em *Arachis hypogaea* L. que não apresentaram diferenças significativas em relação ao peso da massa seca da parte aérea e peso da massa seca da planta, respectivamente, em relação às plantas não inoculadas.

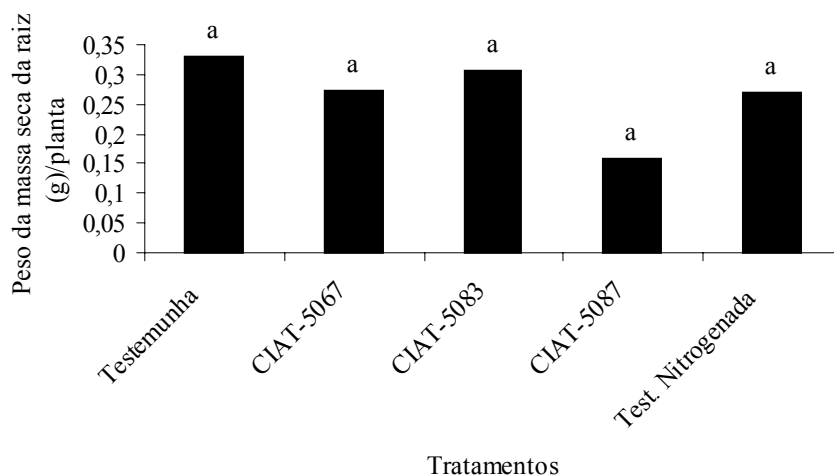


Figura 18 Peso da massa seca da raiz de *Arachis pintoi* acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=40%.

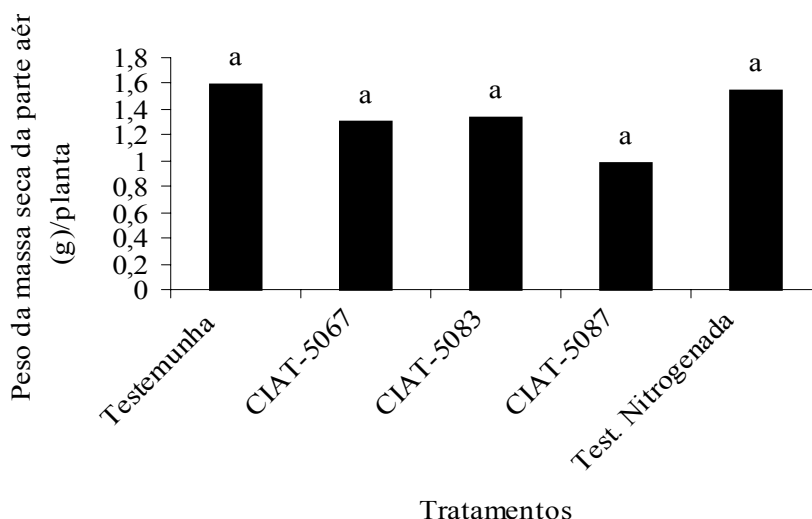


Figura 19 Peso da massa seca da parte aérea de *Arachis pintoi* acesso BRA-031534 propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. CV=29%.

As estirpes, não apresentaram, comportamento diferenciado quando se comparou a massa seca da planta que apresentou nodulação e a massa seca da planta que recebeu adubação nitrogenada. Conforme a formula proposta por Date et al (1993), as duas estirpes se classificaram como altamente efetivas (Figura 20), quando comparadas com as plantas que receberam adubação nitrogenada.

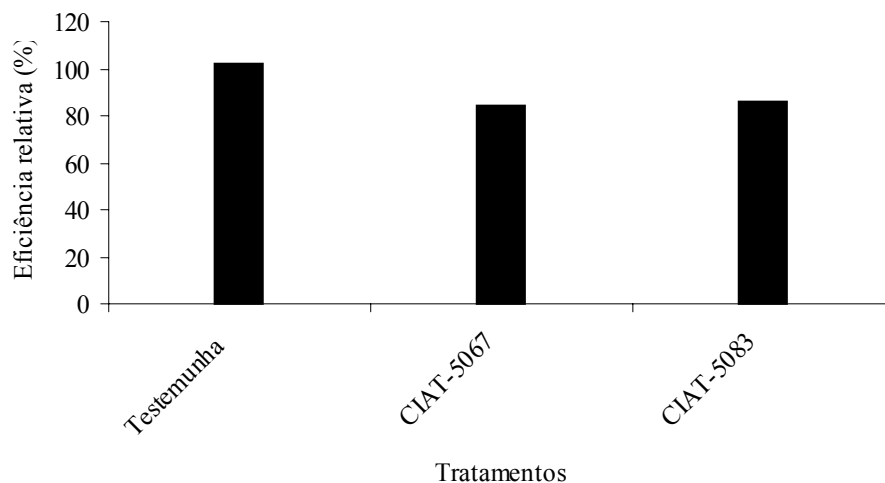


Figura 20 Eficiência relativa das estirpes CIAT-5067 (BR-1407) e CIAT-5083 (BR-1414) inoculadas em plantas de *Arachis pintoí* acesso BRA-031534.

2.5.4 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio BR-1432 e BR1433 em plântulas de *Arachis pintoí* propagadas vegetativamente

As estirpes nativas de rizóbio foram compatíveis com as cultivares estudadas de *Arachis pintoí*, em todos os tratamentos, o que também foi verificado por Purcino et al (1999), Oliveira Junior et al (1997) em *Arachis pintoí*, Vargas-Patiño (1996) em *Arachis hypogaea* também observaram nodulação por estirpes nativas em todos os tratamentos estudados.

Com relação ao número de nódulos, foram observadas diferenças significativas entre as cultivares Amarillo e Belmonte testados, assim como para interação entre as cultivares/acesso e estirpe, as comparações entre estirpes não apresentaram diferenças significativas. Para este parâmetro, observou-se (Figura 21), que a cultivar Belmonte apresentou uma maior nodulação sendo significativamente superior à cultivar Amarillo e acesso BRA-031534, que não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

Em relação à massa seca de nódulos, foram observados aumentos significativos entre as cultivares/acesso testado; e na interação cultivares/acesso e estirpes, as estirpes não se diferenciaram estatisticamente. As estirpes BR-1432 e BR-1433 apresentaram uma massa seca de nódulos na cultivar Belmonte estatisticamente superior às apresentadas na cultivar Amarillo e acesso BRA-031534. Observou-se (Figura 22) que a cultivar Belmonte foi estatisticamente superior à cultivar Amarillo e ao acesso BRA-031534.

Pode-se observar pela Figura 21 que a nodulação das estirpes BR-1432 e BR-1433 apesar de não diferirem significativamente apresentaram uma tendência de maior formação de nódulos que o tratamento testemunha. Ao compararmos as Figuras 21 e 22 observou-se que o número de nódulos e o peso da massa seca de nódulos apresentaram uma similaridade entre estas variáveis, demonstrando claramente a superioridade da cultivar Belmonte. Em relação a

estes parâmetros, pode-se indicar que a utilização da cultivar Belmonte com as estirpes testadas permitirão provavelmente a obtenção dos efeitos positivos indiretos relatados por Lima et al (2004), como a redução da adubação nitrogenada, e com conseqüente diminuição da poluição do lençol freático. Conforme observações de Ferreira et al (2000) em feijoeiro um cultivo com nodulação eficiente permite um sistema de produção sem necessidade de utilização da adubação nitrogenada em cobertura.

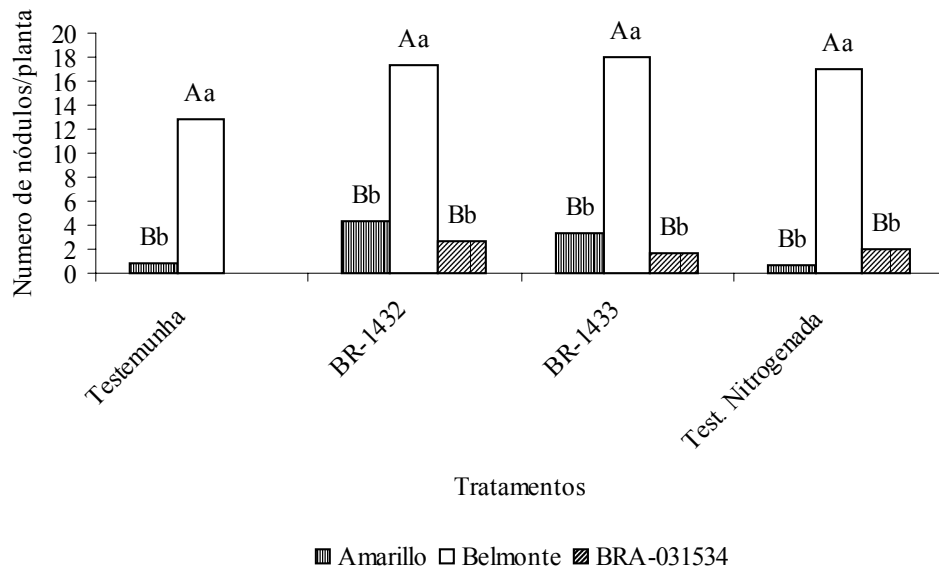


Figura 21 Número de nódulos na raiz de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/acesso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV = 54%.

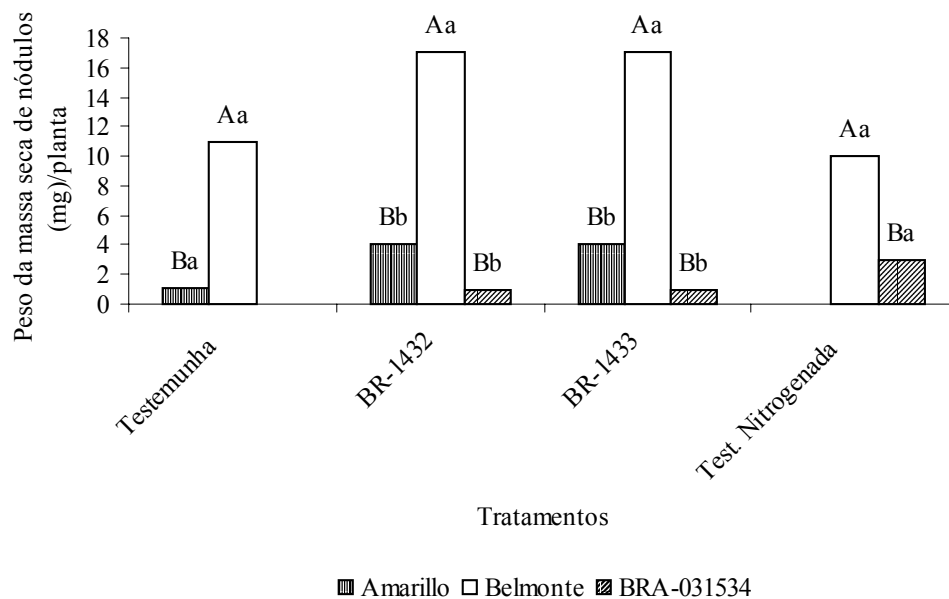


Figura 22 Peso da massa seca de nódulos de *Arachis pintoii* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/acesso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=0,39%.

As cultivares e acesso testados apresentaram ainda diferenças significativas para comprimento da raiz e peso da massa seca da raiz. Em termos de comprimento da raiz a cultivar Belmonte superou significativamente a cultivar Amarillo e o acesso BRA-031534; sendo o acesso BRA-031534 e a cultivar amarillo estatisticamente iguais (Figura 23). A estirpe BR-1432 inoculada na cultivar Belmonte causou um aumento no sistema radicular estatisticamente superior ao obtido na cultivar Amarillo e acesso BRA-031534. A cultivar Belmonte foi estatisticamente superior ao acesso BRA-031534, a cultivar Belmonte mostrou ainda um aumento significativo no peso de massa seca da raiz nos tratamentos com a estirpe BR-1432 e testemunha nitrogenada quando comparada a cultivar Amarillo e ao acesso BRA-031534 (Figura 24). Purcino et al (2000) não conseguiram na cultivar Amarillo aumento na matéria seca promovida por estirpes quando comparado ao tratamento com nitrogênio. Considerando as finalidades do *Arachis pintoii* através do uso em consórcio em pastagens, produção de matéria verde e conservação do solo, a cultivar Belmonte no presente estudo com o significativo aumento no comprimento e peso seco de suas raízes adventícias, mostra-se mais promissora não só em fornecer um maior sítio para facilitar o processo de infecção com as estirpes inoculadas ou nativas. Oliveira et al (2003) observaram que o *Arachis pintoii* permitiu um aumento na liberação de nutrientes, taxa de decomposição e maior número de microrganismos, com a vantagem verificada por Nambiar et al (1984) através de correta combinação entre hospedeiro e estirpe a obtenção de maior produção de frutos em *Arachis hypogaea*.

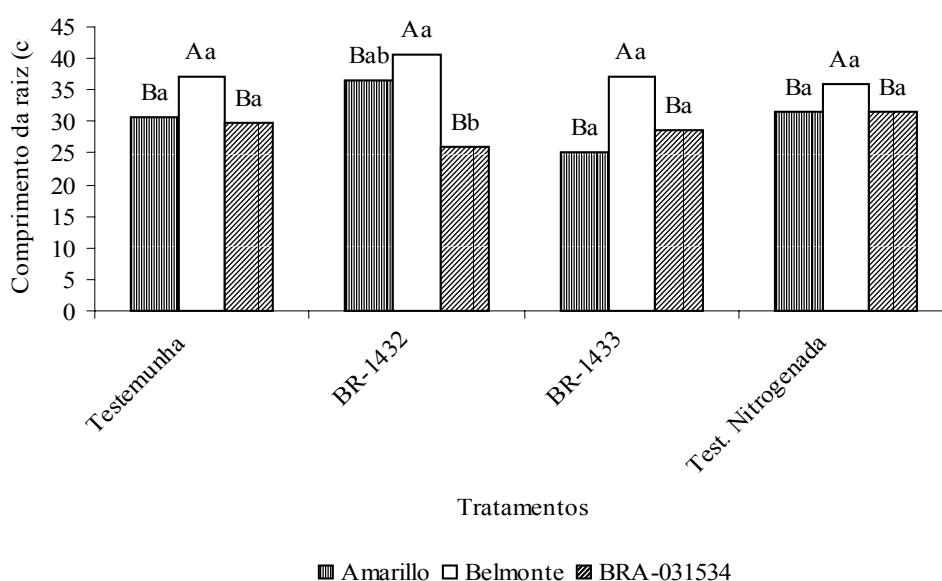


Figura 23 Comprimento de raiz de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/aceso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=12%.

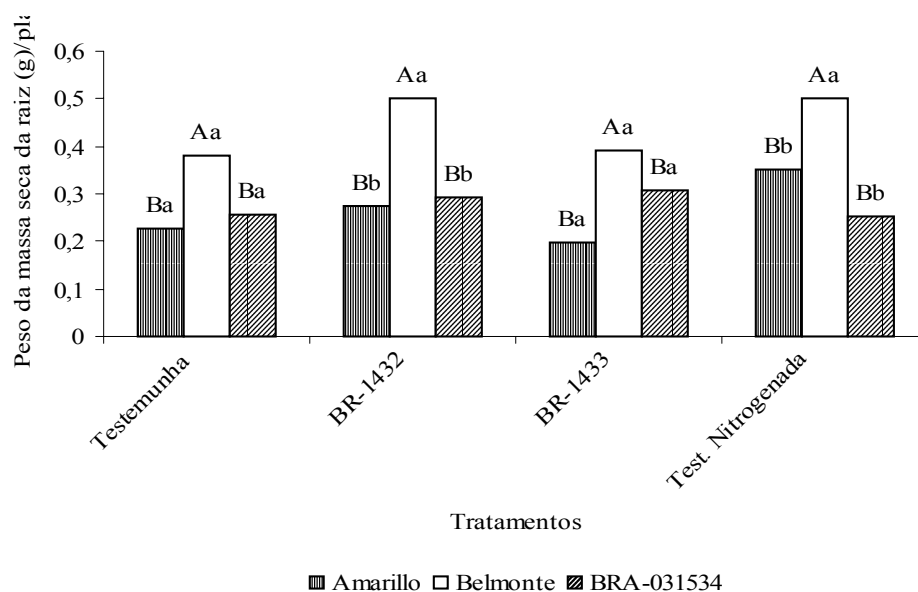


Figura 24 Peso da massa seca da raiz de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/aceso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=4%.

O comprimento da parte aérea não apresentou diferenças significativas entre as variedades, estirpes ou na interação variedades estirpes.

Neste estudo para o peso da massa seca da parte aérea (Figura 25) observou-se que apesar de não diferir significativamente, ocorreu uma tendência de uma melhor resposta na cultivar Belmonte com a estirpe BR-1432, para o acesso BRA-031534 a estirpe BR-1433 e a cultivar Amarillo através da adubação nitrogenada.

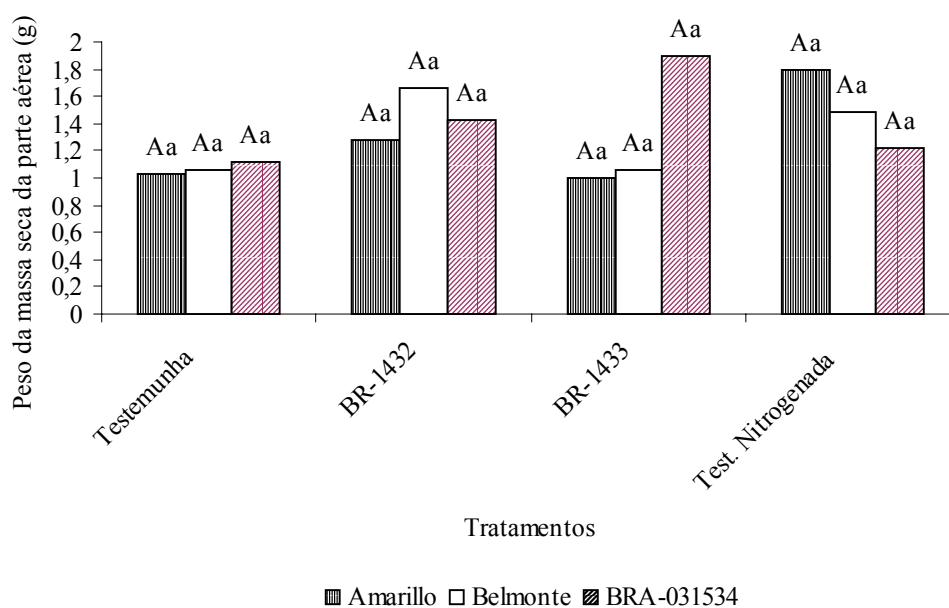


Figura 25 Peso da massa seca da parte aérea de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/aceso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=9%.

A produção de matéria seca da planta apresentou variações conforme a estirpe inoculada e de acordo com a fórmula sugerida por Date et al (1993), nas cultivares Amarillo e Belmonte a estirpe BR-1432 foi altamente efetiva e a estirpe BR-1433 foi considerada efetiva. Para o aceso BRA-031534 as duas estirpes estudadas mostraram-se altamente efetivas (Figura 26).

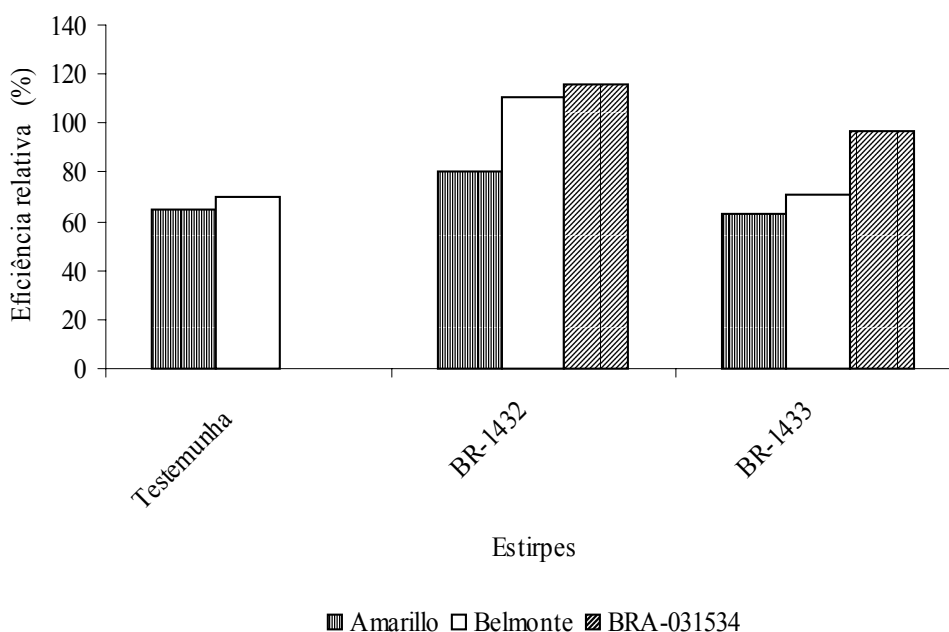


Figura 26 Eficiência relativa das estirpes inoculadas BR-1432 e BR1433 em plântulas de *Arachis pintoi* cv. Amarillo, Belmonte e aceso BRA-031534.

2.5.5 Eficiência da inoculação de estirpes de rizóbio BR-1432; BR-1433 e CIAT-5087 em plântulas de *Arachis pintoï* propagadas vegetativamente

Observou-se nodulação em todos os tratamentos inclusive na testemunha sem inoculação, sendo o número de nódulos da cultivar Belmonte maior em todos os tratamentos, independente da inoculação, indicando a existência de estirpes nativas de rizóbio no solo, compatíveis com o *Arachis pintoï*. Abreu (1996) observou que o *Arachis pintoï* é uma planta com alta capacidade de nodulação, e Asakawa & Ramirez (1989), mostraram que em plantas de *Arachis pintoï* propagadas vegetativamente ocorre à formação de uma boa quantidade de nódulos. Lamas et al (2000) verificaram em plantas de *Arachis hypogaea* que independentemente da adição de inoculante ocorreu uma incidência generalizada de nódulos, e nas observações de Oliveira Junior et al (1997) as estirpes nativas superaram as estirpes comerciais indicadas para *Arachis pintoï*, o que levou a indicar estudo de avaliação e seleção de estirpes nativas do solo.

Em relação ao número de nódulos entre as cultivares/acesso, e a interação variedades e estirpes foram observadas diferenças estatísticas significativas. Pela (Figura 27), observa-se que as estirpes não apresentaram diferenças significativas entre si dentro das cultivares/acesso estudadas. O número de nódulos da cultivar Belmonte sempre foi maior, independente do tratamento utilizado inclusive em relação à testemunha. Os tratamentos com as estirpes testados na cv. Belmonte foram significativamente superiores ao tratamento testemunha nitrogenada, e esta cultivar exceto para o tratamento com testemunha nitrogenada, apresentou o número de nódulos significativamente maior que a cultivar Amarillo e o acesso BRA-031534 testados. O peso da massa seca de nódulos mostra interação altamente significativa entre as cultivares/acesso e significativa na interação de cultivares/acesso e estirpes (Figura 28). Por esta Figura (28) observa-se que nas estirpes testadas a exemplo do número de nódulos as estirpes não foram eficientes em nodular e formar massa seca na cultivar Amarillo e BRA-031534, com as estirpes inoculadas iguais às nativas.

Vargas-Patiño (1996) verificou também que a cultivar Amarillo que não mostrou resposta à inoculação no período de seis meses. Já Purcino et al (1999), observaram que o *Arachis pintoï* nodula com população nativa de rizóbio do solo e responde bem a inoculação com estirpes de rizóbio selecionadas. A redução da nodulação em tratamentos com nitrogênio foi observada por Goi et al (1992), Goi et al (1997) e Inoue et al (2006) que observaram que o nitrogênio mineral diminui o processo de nodulação e Lamas et al (2000) em *Arachis hypogaea* que observou que adubação nitrogenada mesmo em pequenas doses provoca redução na nodulação e fixação biológica de nitrogênio.

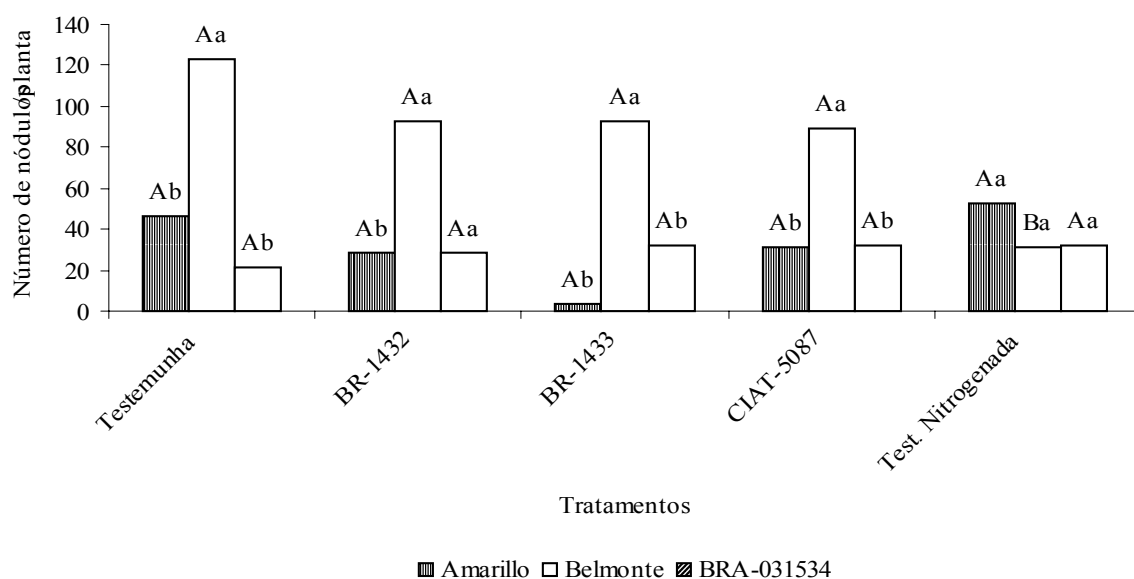


Figura 27 Número de nódulos na raiz de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/aceso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=90%.

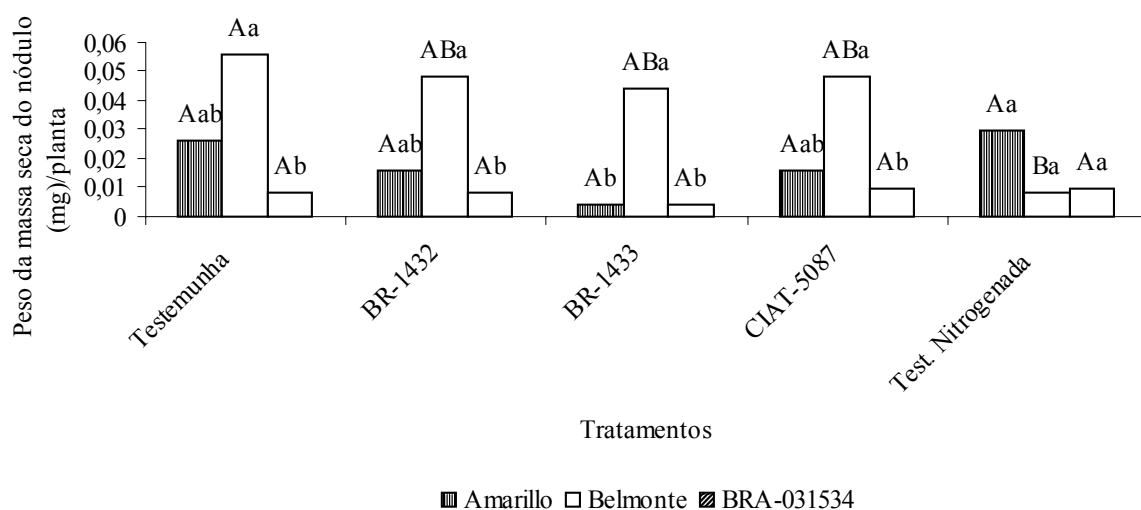


Figura 28 Peso da massa seca de nódulos na raiz de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/aceso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=2,45%.

Para o comprimento da raiz (Figura 29) e da parte aérea (Figura 30), foram observadas diferenças estatísticas altamente significativas entre as cultivares/aceso; foram observadas diferenças significativas com a cv. Belmonte promovendo um crescimento maior que a cv. Amarillo e o aceso BRA-031534. As estirpes inoculadas não promoveram um desenvolvimento radicular significativo em relação ao comprimento da raiz, sendo as estirpes BR-1432 e BR-1433 as que melhor se comportaram quando comparada às testemunhas. A cultivar Belmonte superou significativamente a cultivar Amarillo e ao aceso BRA-031534, observando-se que este aceso apresentou o menor desenvolvimento radicular sendo inferior

significativamente a cultivar Amarillo. O comprimento da parte aérea apresentou em relação às estirpes testadas um comportamento semelhante, causando um significativo aumento na cultivar Belmonte em relação a cultivar Amarillo e acesso BRA-031534. A testemunha nitrogenada não conseguiu superar os tratamentos com inoculação ou a testemunha que apresentou nodulação com estirpes nativas do solo.

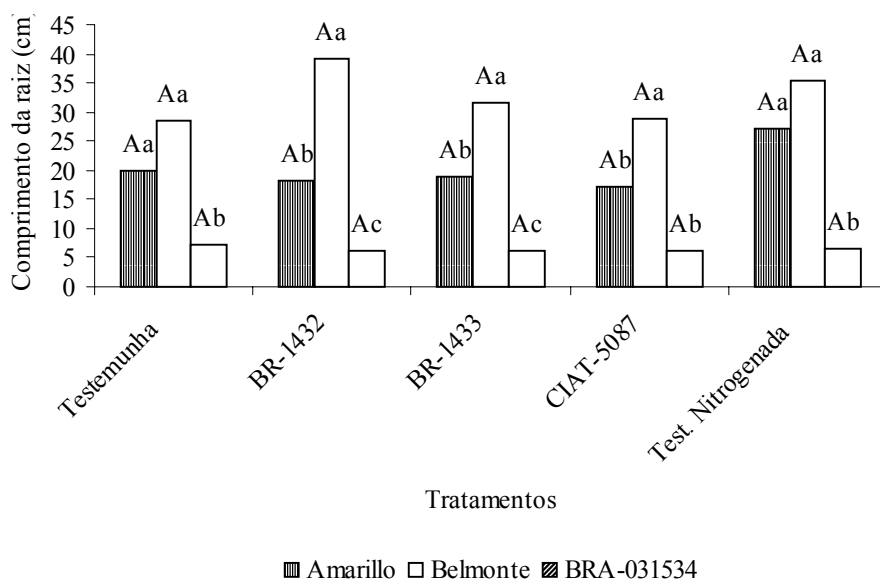


Figura 29 Comprimento de raiz de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/acesso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=37%.

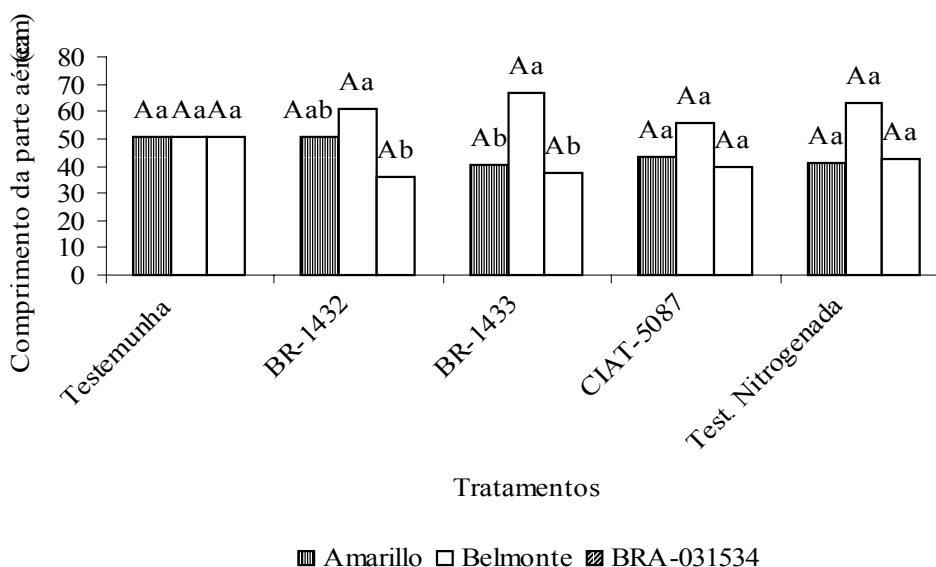


Figura 30 Comprimento de parte aérea de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre cultivares/acesso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=24%.

Observa-se pela Figura 31 que o peso da massa seca da parte aérea no tratamento com a estirpe BR-1433, apesar de não diferir estatisticamente das demais apresentou um melhor

desempenho em relação à cultivar Belmonte, quando comparada a cultivar Amarillo e acesso BRA-031534, as estirpes BR-1432 e CIAT-5087 mostraram comportamento semelhante na cultivares e acesso testados.

Este significativo crescimento da raiz (Figura 29), parte aérea (Figura 30), massa seca da raiz (Figura 32) e da parte aérea (Figura 31), mostra que a cultivar Belmonte tem uma maior capacidade de implantação derivada de uma significativa maior exploração do solo, pois segundo Thomas et al (1997), o processo de fixação de *Arachis pinto* depende de seu crescimento e da sua persistência e conforme Duda et al (2003), este desenvolvimento como cobertura viva favorecerá a biomassa microbiana, o carbono e nitrogênio do solo, tendo em vista que segundo Soares et al (2006) 75% da produção da massa seca depende da fixação biológica de nitrogênio. Para o peso da massa seca da raiz observou-se diferença significativa, com o acesso BRA-031534 mostrando-se superior a cultivar Belmonte porem não diferindo estatisticamente e significativamente superior a cultivar Amarillo (Figuras 32). Resultados semelhantes foram encontrados para as cultivares Amarillo (Silva et al, 2006) e Belmonte (Silva et al, 2004).

Novos ensaios deverão ser conduzidos, incluindo o efeito de micronutrientes, para se otimizar o crescimento dessa cultivar na dependência da fixação biológica de nitrogênio, na tentativa de mudar o quadro nacional, já que altas produções de espécies forrageiras no Brasil estão frequentemente associadas à adubação nitrogenada.

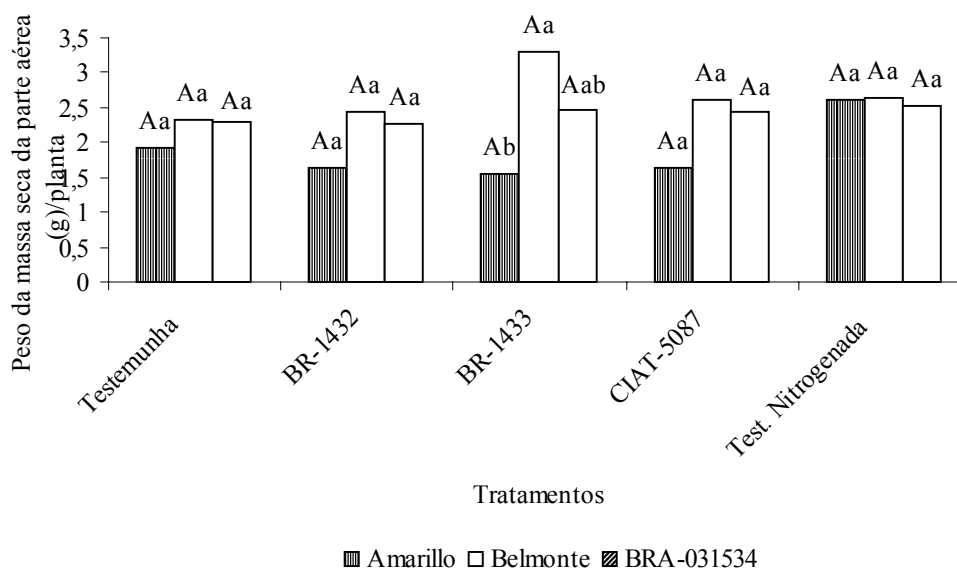


Figura 31 Peso da massa seca da parte aérea de *Arachis pinto* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares/acesso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=33%.

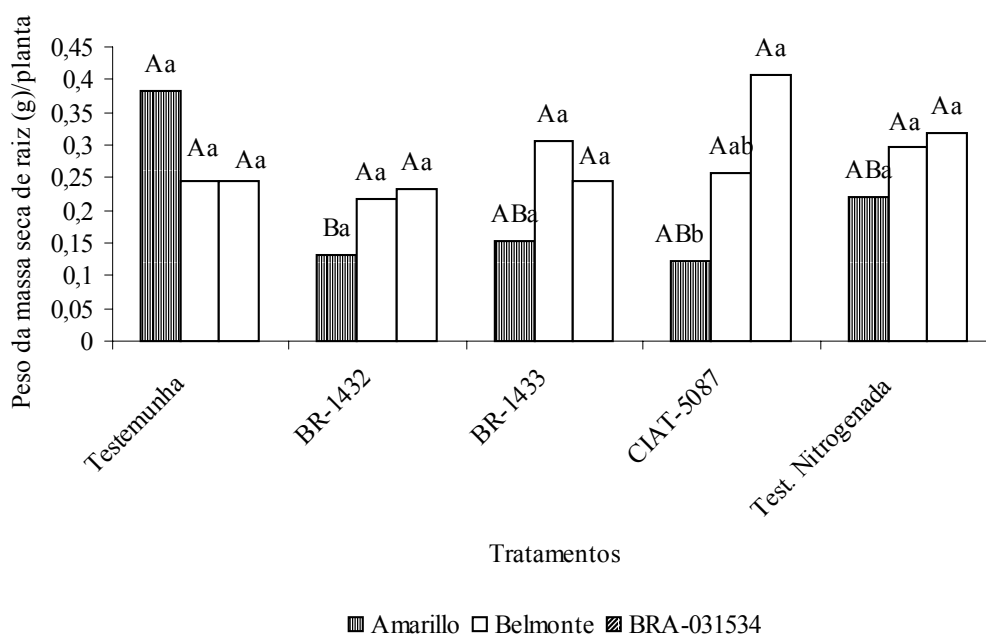


Figura 32 Peso da massa seca da raiz de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as cultivares /acesso e letra minúscula entre as estirpes não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=5%.

O efeito produzido pelas estirpes inoculadas de acordo com a formula sugerida por Date et al (1993), na produção de matéria seca variou conforme a cultivar estudada. Para a cv. Amarillo as três estirpes estudadas se classificam como efetivas, para a cv. Belmonte assim como para o Acesso BRA-031534 estas estirpes se classificaram como altamente efetivas (Figura 33).

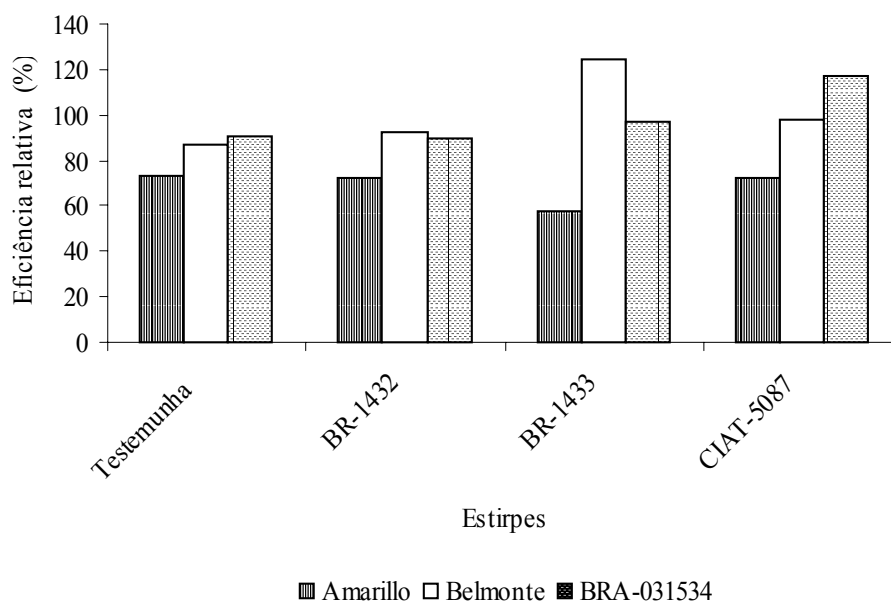


Figura 33 Eficiência relativa das estirpes inoculadas BR-1432; BR-1433 e CIAT-5087 (BR-1418) em plântulas de *Arachis pintoi* cv. Amarillo, Belmonte e acesso BRA-031534.

2.6 CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos no experimento com a cultivar Amarillo, usando estirpes isoladas de rizóbio, indicam que elas tiveram a mesma efetividade dos rizóbios nativos e fixaram nitrogênio em quantidades similares ao nitrogênio aplicado no tratamento testemunha nitrogenada. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre as estirpes com relação ao peso da massa seca da parte aérea, a estirpe CIAT-5083 (BR-1414) foi identificada como efetiva e as estirpes nativas e as estirpes CIAT-5067 (BR-1407) e CIAT-5087 (BR-1418) como altamente efetivas. Considerando que nos locais de plantio, não seria garantida a presença de estirpes nativas de *Rhizobium* eficientes, recomenda-se que estas estirpes sejam utilizadas no processo de inoculação.
- Para a cultivar Belmonte, as estirpes nativas e as estirpes CIAT-5067 (BR-1407), CIAT-5083 (BR-1414) e CIAT-5087 (BR-1418) foram classificadas como altamente efetivas e portanto, a proposta de inoculação das estacas deve ser indicada para a cultivar Belmonte. Os dados sugerem que ocorreu uma tendência para efeito deletério do nitrogênio no número de nódulos por planta.
- No estudo com o acesso BRA-031534, as estirpes nativas assim como as estirpes inoculadas CIAT-5083 (BR-1414) e CIAT-5067 (BR-1407) foram altamente efetivas.
- Quando crescidas no mesmo experimento as cultivares Amarillo, Belmonte e o acesso BRA-031534 responderam de forma diferenciada à inoculação. A estirpe BR-1432 foi classificada como altamente efetiva para todos os materiais genéticos testados; a estirpe BR-1433 foi classificada como efetiva para as cultivares Amarillo e Belmonte e altamente efetiva para o acesso BRA-031534, e as estirpes nativas se classificaram como efetivas para as cultivares Amarillo e Belmonte.
- A cultivar Belmonte mostrou-se superior à cv Amarillo e ao acesso BRA-031534 em todos os parâmetros estudados.



Figura 34 Planta na época de coleta, com florescimento, aos 70 dias após o plantio.

3 CAPÍTULO II.

**EFEITO DO ALUMÍNIO NO
CRESCIMENTO DE *Arachis pintoi*.**

3.1 RESUMO

O alumínio se caracteriza pela sua influência no desenvolvimento das plantas cultivadas nos trópicos. Dentre estas plantas, utiliza-se o *Arachis pintoi* sob a forma de consórcio com gramíneas, porém existe pouca informação sobre a influência do alumínio nesta leguminosa, principalmente em relação às plantas propagadas vegetativamente, de modo a permitir seu cultivo em solos com elevado teor deste metal. Neste estudo foi verificado o efeito do alumínio em plântulas de *Arachis pintoi* propagadas por sementes ou estolões em solução nutritiva simples e em solução nutritiva completa, envolvendo as cultivares Amarillo, Belmonte e o acesso BRA-031534.

Avaliaram-se os efeitos na planta, através do comprimento da raiz, comprimento relativo, peso da massa seca da raiz e parte aérea, comprimento da parte aérea, assim como a reação do sistema radicular aos corantes violeta de pirocatecol e hematoxilina. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com cinco repetições. Para o experimento de solução nutritiva simples, foram utilizados inicialmente os níveis de alumínio (10 μ M, 20 μ M, 40 μ M, 80 μ M e 160 μ M) e posteriormente (2 μ M, 4 μ M, 8 μ M, 16 μ M e 32 μ M) em plântulas da cultivar Amarillo propagadas por sementes, no estudo da solução nutritiva completa utilizou-se os níveis de (20 μ M, 40 μ M, 80 μ M, 160 μ M, e 320 μ M), nas cultivares Amarillo, Belmonte e acesso BRA-031534 propagados por sementes e por estolões.

Os resultados em solução nutritiva simples mostraram reduções no comprimento da raiz primária, aparecimento de mucilagem e escurecimento da raiz primária como resposta à toxidez provocada pelo alumínio utilizado na solução. O peso da massa seca da raiz foi afetado negativamente pelas concentrações de 80 μ M e 160 μ M e o comprimento relativo da raiz apresentou uma redução de 27% em relação a concentração de 16 μ M e o controle.

Nos estudos envolvendo as soluções nutritivas completas, as plântulas da cv Amarillo e do acesso BRA-031534 propagadas por sementes apresentaram redução no crescimento da raiz primária e o comprimento relativo da raiz em relação a testemunha mostrou na cultivar Amarillo uma redução de 51% da concentração de 320 μ M, e no acesso BRA-031534 ocorreu uma redução de 49% na concentração de 160 μ M. Ainda em relação à toxidez provocada pelo alumínio, a cv Amarillo apresentou as raízes com as extremidades escurecidas nas concentrações de 160 μ M e 320 μ M, mostrando ainda aumento no número de raízes secundárias a partir da concentração de 80 μ M. O uso dos corantes radiculares (Violeta de Pirocatecol e hematoxilina) foram promissores em permitir visualizar os efeitos tóxicos do alumínio, com relação às cv Amarillo e acesso BRA-031534.

Na propagação vegetativa com as duas cultivares e o acesso testados, observou-se que a cultivar Belmonte formou mais raízes adventícias que a cultivar Amarillo e o acesso BRA-031534 e a partir da concentração de 80 μ M ocorreu redução no comprimento das raízes adventícias das cultivares e acesso testado. O efeito causado pelo alumínio nos experimentos utilizando propagação vegetativa foi maior que os obtidos em plantas propagadas por sementes.

Palavras Chave: *Arachis pintoi*, leguminosa, alumínio.

3.2 ABSTRACT

The aluminum is characterized for its influence in the development of cultivated plants in the tropics and among these plants *Arachis pinto* is used. The *Arachis pinto* is used as pasture associated with gramineous species. However little amount of information exists about the influence of aluminum in plants of *Arachis pinto* and in order to allow the grown of these plants in soils with high contents of this metal. In this study the effect of aluminum was verified in *Arachis pinto* plants propagated by seeds or stakes in simple nutrient solution and in complete nutrient solution using Amarillo and Belmonte cultivars and BRA-031534 inbred.

The changes in the plant were evaluated through the length of the root length, relative root length, root dry weight, length and shoot dry weight. Pyrocatecol violet and hematoxylin were used to stain the roots dyes. The experimental design was a randomized blocks with five replicates. In simple nutrient solution the following aluminum levels had been used: 10 μ M, 20 μ M, 40 μ M, 80 μ M and 160 μ M, and subsequently: 2 μ M, 4 μ M, 8 μ M, 16 μ M and 32 μ M with Amarillo cultivar propagated by seeds. In the study with complete nutrient solution, the levels of Al used were: of 20 μ M, 40 μ M, 80 μ M, 160 μ M, and 320 μ M in Amarillo and Belmonte cultivars and accession BRA-031534 propagated by seeds and stakes.

The results in a simple nutrient solution showed reduction in the length of the primary root, increase the mucilage production and darkening of the tip of primary root was observed as a response to the aluminium toxicity. The root dry weight was negatively affected at the concentrations of 80 μ M and 160 μ M and the relative length of the root presented a reduction of 27% when compared with the concentration of 16 μ M and the with the control plants.

In studies involving the complete nutritious solutions, cv Amarillo and access BRA-031534 plants propagated by seeds showed reduction in the growth of the primary root; the relative root length showed in Amarillo cultivar a reduction of 51% at the concentration of 320 μ M; with the BRA-031534 inbred, a reduction of 49% in the concentration of 160 μ M was observed. The Amarillo cv. presented the roots with the tips dark in the concentrations of 160 and 320; an increase in the number of secondary roots from the concentration of 80 μ M was observed. The use of radicular dyes (pyrocatecol violet and hematoxylin) seems promising in allowing visualization the toxic effects of the aluminium in Amarillo cv. and BRA-031534 inbred.

In the vegetative propagation experiment, it was observed that the Belmonte cultivar showed more adventitious roots than the Amarillo cultivar and BRA-031534 inbred. From the concentration of 80 μ M was observed reduction in the length of the adventitious roots. The effect caused by the aluminum in the experiments using vegetative propagation was larger than obtained them in plants by seeds.

Key words: *Arachis pinto*, legume, aluminium.

3.3 INTRODUÇÃO

A acidez dos solos tropicais afeta diretamente a produção agrícola, e a calagem embora possa ser aplicada, não é economicamente viável para pequenos produtores. Uma solução para este problema é selecionar cultivares tolerantes à acidez do solo (Rao & Kerridge, 1993). Esta limita significativamente a produção mundial, porque aproximadamente 50% dos solos aráveis são ácidos e estes solos apresentam como limitação primária, os níveis tóxicos de alumínio e manganês e níveis subótimos de fósforo (Kochian et al, 2004). Foy et al (1965) observaram que certas variedades de cevada e trigo nos Estados Unidos e variedades de trigo no Brasil tem sido selecionadas por apresentarem condições de tolerar o alumínio em solos ácidos.

Estes fatores (toxidez do alumínio e a deficiência em fósforo) são os que mais afetam o crescimento das culturas e este efeito se manifesta inicialmente nos tecidos da raiz inibindo seu crescimento e limitando o uso da água e dos nutrientes pela planta (Vasconcellos, 1998; CIAT, 1991).

O alumínio é um dos principais responsáveis pelo baixo rendimento das plantas importantes economicamente cultivadas em solos ácidos, a forma Al^{+3} é tóxica e o sintoma inicial é a inibição do crescimento da raiz. De um modo geral, o crescimento das plantas, é reduzido drasticamente na presença de impedimentos de natureza química como a acidez e toxidez por alumínio. As plantas variam quanto a tolerância ao alumínio. (Zonta et al, 2006; Echart & Cavali-Molinas, 2001).

O estudo do efeito do alumínio na absorção e na utilização de macronutrientes em duas cultivares de arroz mostrou que a absorção líquida dos macronutrientes na presença de alumínio decresceu na parte aérea e nas raízes, especialmente em concentração mais elevadas e na cultivar mais sensível. Provavelmente a tolerância diferencial entre a cultivar sensível e a insensível ao alumínio resulte de suas diferenças em absorver, manter concentrações adequadas e utilizar com maior eficiência os macronutrientes, principalmente o magnésio, cálcio e fósforo (Mendonça et al, 2003).

Existem evidências de que numerosos processos fisiológicos ocorrem no ápice radicular e que são alterados quando a raiz é exposta ao alumínio, que é transportado, com os efeitos tóxicos do alumínio, exercidos diretamente pelo alumínio intracelular (Lazof et al, 1994).

O alumínio se acumula rapidamente nas células do ápice radicular e da epiderme. A aplicação de alumínio na região do ápice radicular do milho provoca a inibição do seu crescimento. Porém estes efeitos de inibição somente ocorrem quando o alumínio entra em contato direto com o ápice radicular e/ou meristema e na zona de alongação da raiz pouco ou nenhum dano foi observado. Ryan et al, (1993) sugerem ser a região do ápice radicular o principal local da toxicidade ao alumínio. Os danos provocados pelo alumínio nestas regiões dependerá do grau de severidade (Simonovicová et al, 2004). Tamás et al (2006) observaram na raiz de cevada, correlação entre a entrada do alumínio, a morte da célula e a inibição do crescimento da raiz.

O amendoim *Arachis hypogaea* L. tem o comprimento da raiz severamente reduzido em concentrações de alumínio de $10\mu M$ (Brady et al, 1994) e na soja, o primeiro efeito da toxicidade do alumínio é a redução do crescimento dos pêlos radiculares e do ápice radicular. (Brady et al, 1993), observando-se um atrofiamento e uma limitação ao crescimento da raiz primária de soja (Menosso et al, 2000), o que torna o crescimento da raiz primária em soja, um parâmetro confiável na seleção de genótipos tolerantes e sensíveis (Menosso et al, 2001). Em relação a espécies arbóreas, o angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* Benth.) apresentou como resposta ao alumínio, diminuição do crescimento da parte aérea e enrolamento da raiz o que pode comprometer o estabelecimento da espécie em solos com

altas concentrações de alumínio (Nascimento, 1998). Já a *Ingá marginata* apresentou diminuição no comprimento e na massa seca da raiz (Curti Junior, 2001). Mudanças de pimenta do reino (*Piper nigrum* L.), quando submetidas a tratamentos com alumínio apresentaram sintomas de toxidez na parte aérea (Velosso et al., 2000). As plantas de *Betula pendula* Roth sensíveis ao alumínio apresentaram redução no crescimento, na morfologia da raiz e expansão das folhas (Kidd & Proctor, 2000). Santos et al (1999), observaram em porta-enxerto cítricos reduções significativas no crescimento e desenvolvimento das plantas quando avaliadas em solução nutritiva com diferentes níveis de alumínio. Contudo, Pahlsson (1990) verificou que o alumínio não afetou o peso seco da raiz de feijão.

O alumínio provoca em milho a redução no comprimento, engrossamento, perdas da epiderme e rachadura na raiz (Jones et al, 2006; Mazzocato et al, 2002; Kollmeier et al, 2000), em plântulas de soja alterações no comprimento, peso seco da raiz e da parte aérea (Villagarcia et al, 2001), em canola (Clune & Copeland, 2004) e em *Bromus* sp. (Toneatti & Rivera, 2005).

Na cultura do arroz a extensão da inibição depende da cultivar e da concentração de alumínio, (Macedo et al 2001). Braccini et al (1996) observaram um maior acúmulo de alumínio na região de alongamento celular, especialmente na variedade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) mais sensível.

Cultivares de soja sensíveis e insensíveis ao alumínio apresentam inibição nas primeiras 6 horas de exposição quando submetidas à concentração de 15 μ M de alumínio. Porém após as 6 horas de exposição, a inibição ao crescimento da raiz aumenta somente na cultivar sensível ao alumínio, o que sugere a intervenção de um mecanismo de resistência na cultivar insensível ao alumínio (Yang et al, 2000). Alumínio (500 μ M) induziu o estresse oxidativo, com declínio de enzimas antioxidativas e degradação da leghemoglobina, com conseqüente declínio na atividade da nitrogenase da soja (Balestrasse et al, 2006). As enzimas antioxidantes, ascorbato peroxidase, catalase e superoxidase dismutase são componentes essenciais do sistema de defesa antioxidativo e portanto, a diminuição de suas atividades é sintomático de dano oxidativo. Parker (1995) verificou que após uma redução no comprimento da raiz nas plântulas de trigo provocada pelo alumínio, elas mostraram uma recuperação de crescimento. As raízes de soja apresentaram um crescimento menor em pH 4,0, que em relação ao pH 5,0 e 6,0, em função da maior toxidez do alumínio (Nolla, 2004). Ainda em plantas de soja, o alumínio provocou uma maior inibição no comprimento da raiz lateral do que na raiz principal (Ferrufino et al, 2000). Porém a proteção contra injúrias provocadas pelo pH da rizosfera não parece ser o mecanismo de tolerância do cafeeiro, em relação à toxidez do alumínio, pois genótipos sensíveis e tolerantes têm o mesmo comportamento (Braccini et al, 2000). Sob condições de estresse provocado pelo alumínio, Darkó et al (2004) observaram que as plantas de trigo tolerantes ao alumínio exibiram maior crescimento de raiz, menor acúmulo de alumínio e de oxigênio radiativo que as plantas sensíveis. O acúmulo de alumínio ocorreu principalmente na ponta da raiz.

Wenzl et al (2001) concluíram em seu trabalho que provavelmente outros mecanismos fisiológicos possam ser responsáveis pelo alto nível de resistência do *Brachiaria decumbens* Stapf cv. Basilisk ao alumínio, pois não acreditam que somente a secreção de ácidos orgânicos e fosfatos pela ponta da raiz e a alcalinização da rizosfera, neste local sejam os fatores que influenciam a resistência ao alumínio. Macedo et al (2001) constataram que os ácidos málico e cítrico não provocaram diferenças com relação à resistência ao alumínio, entre as cultivares de arroz utilizadas e sugerem que seja necessária a avaliação de outros mecanismos de resistência ao alumínio. Rao & Kerridge (1993) observaram que o *Arachis pintoi* apresenta alta concentração de alumínio na planta sugerindo que possa ocorrer alguma quelatação ou compartimentalização do alumínio nesta parte da planta.

Li et al., (2000), citam que a mucilagem apesar de ser considerada como um mecanismo de proteção da raiz às injúrias provocadas pelo alumínio, ela afeta a acumulação de alumínio pela raiz do milho e não confere resistência na ponta da raiz às injúrias.

A toxicidade ao alumínio é considerada um fator limitante para o crescimento de muitas espécies em solos ácidos em várias partes do mundo (Foy, 1996a, Foy, 1996b). Embora exista um número muito grande de informações a respeito da resistência ao alumínio em plantas de importância agrônômica, relativamente pouco é conhecido em relação à adaptabilidade de algumas espécies. Carver & Ownby (1988) demonstraram que existem variações entre genótipos e variedades de plantas quanto a resposta ao nível de alumínio no solo e a fixação biológica de nitrogênio. Foi observado que o alumínio aumenta o tempo de multiplicação da bactéria, retardando a nodulação (Ribeiro, 1985). Sintomas de toxicidade ao alumínio ocorre tanto a nível celular, como ao nível de órgãos vegetais (Taylor, 1995). Contudo, a inibição do crescimento da parte aérea e em particular, do sistema radicular, é o sintoma mais facilmente reconhecido (Delhaize & Ryan, 1995).

A substituição do cálcio pelo alumínio na superfície externa da membrana plasmática pode mudar o influxo de cálcio para o citossol (Haung, 1984) e subseqüentemente induz a formação de calose no apoplasto principalmente na região de 1 a 2 mm do ápice radicular (Sigavuru & Horst, 1998; Wissemeier et al., 1987). A deposição de calose é diretamente associada a injúrias da membrana (Kauss, 1989) e o alumínio é conhecido por danificar as membranas (Wagatsuma et al, 1988). A deposição de calose tem sido correlacionada com a presença de alumínio nas raízes de *Glycine max* (Wissemeier et al 1987) e *Picea abies* (Jorns et al 1991). A calose é um indicador particular de sensibilidade à toxidez causada pelo alumínio e pode ser prontamente observada através de microscópio fluorescente.

Além da produção de calose, plantas afetadas pelo alumínio, apresentam outras mudanças na ultraestrutura celular. Mudanças no Complexo de Golgi, acumulação de vesículas secretórias e ausência de plastídios (Bennet et al 1985). Foram observadas também mudanças estruturais na coifa, bem como mudanças na curvatura da raiz (Eleftherios et al, 1993).

É de extrema importância, que se desenvolvam novos métodos, rápidos, eficientes e de baixo custo operacional para a avaliação de plantas tolerantes à toxicidade de alumínio, pois permitirão que os programas de melhoramento genético que visem este estresse sejam acelerados, bem como novas espécies nativas sejam indicadas como espécies tolerantes ao alumínio. As técnicas de seleção para tolerância ao alumínio são baseadas principalmente na exposição de plântulas ao alumínio em solução ou solo e subseqüentes medições da inibição do crescimento radicular (Horst & Klotz, 1990) e utilização de corantes específicos (Jacob Neto, 1993).

Intensos esforços de pesquisa têm sido direcionados para pesquisas básicas e aplicadas sobre fitotoxicidade de alumínio. Contudo apesar dos esforços, não se tem ainda um claro entendimento do efeito do alumínio sobre os mecanismos fisiológicos e bioquímicos da planta. Isto ocorre provavelmente devido à complexidade físico-química do alumínio, a falta de um radioisótopo estável e à deficiência dos métodos analíticos na determinação do Al no sistema biológico.

Normalmente as plantas tolerantes ao complexo de acidez do solo são plantas tolerantes a baixos níveis de bases trocáveis e geralmente a baixo fósforo. O problema de deficiência de fósforo em solos tropicais ácidos ocorre normalmente junto com a toxicidade do alumínio (Salinas & Sanchez, 1975). Em experimento utilizando ³²P, ⁴⁵Ca e ⁵⁵Fe, Jacob Neto (1993), mostrou que a cultivar de soja IAC-9 (tolerante ao alumínio) foi capaz de transportar mais eficientemente estes elementos para a parte aérea do que a cultivar UFV-1 (menos tolerante ao alumínio). Este trabalho também sugeriu que pode haver um relacionamento direto entre resistência genética ao alumínio e o movimento do cálcio através

do apoplasto e do fósforo através do simplasto. A cultivar IAC-9 foi capaz de manter uma maior concentração o intracelular de cálcio em presença do alumínio do que a cv. UFV-1.

O fato de que cultivares e espécies diferem em tolerância ao Al, sugerem que melhoristas e biólogos moleculares podem desenvolver plantas capazes de crescer em ambientes com baixos níveis de bases ou com uma maior capacidade de enraizar profundamente. Foy et al. (1969) sugeriram que as diferenças entre cultivares tolerantes e não tolerantes podem funcionar como uma valiosa fonte de informação em estudos sobre a natureza fisiológica da toxicidade do alumínio. Existem pelo menos dois mecanismos básicos envolvidos na tolerância ao alumínio: a) mecanismos de exclusão; b) mecanismos internos de tolerância. Os mecanismos de exclusão são aqueles, onde o alumínio é impedido de penetrar na membrana plasmática, alcançando sítios sensitivos intracelulares (Taylor, 1988; Taylor, 1991). A prevenção da entrada de alumínio no simplasma pode ocorrer de diferentes formas: 1) imobilização na parede celular (Wissemeier, 1992; Clarkson, 1967; Wright et al, 1959; Wright, 1943); 2) permeabilidade seletiva na membrana plasmática (Dong et al, 2004; Tabushi et al, 2004; Tabushi Matsumoto, 2001; Kinraide et al.,1988; Caldweel, 1989; Wagatsuma, 1983) 3) planta induzindo uma barreira de pH na rizosfera (Silva, 2001; Yang et al, 2000; Degenhard et al, 1998; Larsen et al, 1998; Larsen et al, 1997; Jacob Neto et al., 1994; Jacob Neto, 1993; Taylor 1988; Taylor & Foy, 1985a; Taylor & Foy, 1985b); 4) exudação de quelantes orgânicos (Liao et al, 2006; Zonta et al, 2006; Zonta et al, 2003; Piñeros et al, 2002; White, 2002; Ma et al, 2001; Macedo et al, 2001; Scottelndreier et al, 2001; Li et al 2000; Ma, 2000; Larsen, 1998; Zheng et al, 1998; Jacob Neto, 1993; Blamey et al., 1990; Horst et al.,1982); 5) Precipitação com fósforo (Zheng et al, 2005; Vázquez et al, 1999; Jacob Neto, 1993; Foy et al.,1978).

Jacob Neto (1993), verificou que as plantas menos tolerantes ao alumínio como a cultivar de feijão CNF 178 coloriu-se intensamente com o corante pirocatecol, caracterizando altas concentrações de alumínio na rizosfera, onde este elemento foi complexado.

Os mecanismos intracelulares de proteção contra injúrias do alumínio podem estar ligados à quelatação de alumínio no citossol por ácidos orgânicos, proteínas e compartimentalização no vacúolo (Taylor, 1991; Wagatsuma, 1983). Jacob Neto (1993) e Jacob Neto et al., (1994 a, b) mostraram pela primeira vez diferenças na ultraestrutura de nódulos de soja e feijão devido ao efeito do alumínio. Estudos realizados no microscópio ótico e eletrônico mostraram depósitos escuros em cortes do nódulo e raiz, sendo mais acentuada na cultivar IAC-9 quando comparada com UFV-1. Foi sugerido que a tolerância ao alumínio poderia estar ligada a quelatização do alumínio nestas manchas.

Resistência à deficiência mineral induzida por alumínio a elementos como fósforo (Clarkson,1967; Wright, 1943), cálcio, magnésio e potássio (Foy et al.,1969) pode estar também relacionadas a mecanismos internos de proteção da planta. Duas linhas de pesquisas têm sido adotadas para superar o problema de toxidez de alumínio em plantas: 1) aplicação de calagem (Ca+Mg) ao solo e 2) programas de melhoramento selecionando cultivares tolerantes. Arminger et al. (1968) sugeriram que a aplicação de calagem à superfície do solo é freqüentemente inefetiva em neutralizar o pH em camadas mais profundas do solo e pode não ser viável economicamente. A calagem é também uma operação cara e muitas áreas ácidas podem ter limitações de depósitos calcários ficando longe da fonte (Jacob Neto, 1993).

Embora a variabilidade genética em plantas tenha sido documentada (Foy et al.,1978; Foy et al.,1969) a seleção de cultivares tolerantes ao alumínio tem sido dificultada pela falta de um método viável e rápido de seleção (Foy et al.,1978). Experimentos de campo devem ser preferidos como os mais desejáveis, porque é a melhor aproximação da realidade. Entretanto, sob o ponto de vista prático, a concentração de alumínio no solo pode não ser uniforme e a interação com fatores ambientais pode mascarar a expressão da tolerância ao alumínio (Taylor, 1988).

Uma alternativa para selecionar grandes populações de plantas e milhares de linhagens geralmente usadas em programas de melhoramento é o uso de corantes na raiz (Pole et al, 1978). Corantes têm sido usados em plantas desde que Link (1807, citado em Conn, 1977) usou sulfato de ferro para colorir tanino em tecidos de planta. Para colorir tecidos com alumínio, hematoxilina tem sido usado para visualizar alumínio na superfície de raízes e para localização histológica do alumínio em tecidos de raízes (Wright et al, 1988; Kinraide, 1988; Polle et al., 1978; Wriht & Donahue, 1953; McLean & Gilbert, 1927;). Outros corantes como quinalizarina (Kalovoulos & Misopolinos, 1983), corantes básicos (azul de metileno) (Wagatsuma et al., 1988), aluminon (Matsumoto & Morimura, 1980) e azul de molibdênio que colore alumínio/fósforo, também tem sido usados (McCormick & Borden, 1974; McCormick & Borden, 1972).

Foi observado por Jacob Neto et al, (1991) e Jacob Neto (1993) que a fonte de nitrogênio pode afetar a coloração da raiz de feijão através de efeito na rizosfera. A utilização de amônio ou nitrato de amônio (dependendo da proporção NH_4^+/NO_3^-) em baixos valores de pH geralmente provoca uma coloração escura nas pontas das raízes o que prejudica a avaliação da raiz corada. Plantas fixando nitrogênio atmosférico apesar de abaixarem o pH do meio tinham as raízes com uma coloração diferente das que cresciam em ambiente com amônia (Jacob Neto, 1993). A hematoxilina na presença do alumínio, deixa a raiz com uma coloração preta e com o corante quinalizarina apresenta uma coloração vermelho/roxo. Portanto a utilização dos corantes convencionais em presença de nitrato de amônio, que por si só já altera a coloração da raiz, pode ficar prejudicada.

Foi então desenvolvido por Jacob Neto (1993) um corante a base de pirocatecol capaz de colorir toda a raiz do feijão. O trabalho mostrou diferenças entre cultivares de feijão quanto a tolerância de alumínio testado em várias condições e com correlação entre as concentrações de cátions na rizosfera (Jacob Neto & Franco, 1995). Este corante foi testado com eficiência em soja por Jacob Neto & Franco (1995) e Jacob Neto & Raven (1996). Em testes realizados com outras leguminosas principalmente plantas utilizadas em programas de adubação verde como mucuna, lablab, guandu, crotalária, e centrosema entre outras, o corante funcionou eficientemente Jacob Neto et al (1988).

Em relação ao estudo da tolerância ao alumínio, a questão agrônômica-florestal mais importante é saber se as diferenças observadas em relação à tolerância durante a germinação e estágio de plântula são representativas daqueles genótipos durante todo o ciclo de crescimento (Horst, 1985; Hanson & Kamprath, 1979). A avaliação das raízes de alfafa (*Medicago sativa* L.) e do trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.), mostrou-se mais eficiente do que a parte aérea na seleção de plantas tolerantes ao alumínio crescido em solução nutritiva (Caetano, 2002), porém ainda não está esclarecido se medições de alongação radicular de plantas expostas ao alumínio por poucos dias, seriam uma prática correta para a previsão do desempenho de genótipos no campo (Parker, 1995). Estudos de alongação radicular de curta duração, para a determinação da tolerância ao alumínio apenas consideram os efeitos do alumínio na alongação e divisão celular, ao passo que estudos de mais longa duração refletem o efeito contínuo do alumínio no crescimento da parte aérea, raiz e na absorção de nutrientes (Fageria et al., 1988; Sartain & Kamprath, 1978). O desempenho no campo, de plantas crescidas em solos ácidos é necessariamente uma função da sanidade e do crescimento a longo prazo do sistema radicular (Parker, 1995).

Um dos problemas principais da pesquisa de estresse de plantas crescidas em solo ácido tem sido a falta de correlação entre informações de laboratório e de campo, isto é, genótipos selecionados em condições controladas não têm apresentado performances compatíveis em nível de campo (Garland Campbell & Carter, 1990; Duncan et al., 1983). Contudo, existem na literatura relatos mostrando correlações positivas entre a tolerância ao alumínio em curto prazo e a produção no campo. As diferenças nas respostas varietais de trigo

em solos ácidos foram compatíveis com aquelas obtidas em solução nutritiva na presença de alumínio (Kerridge et al., 1971). Genótipos de cevada selecionados em potes com solo ácido (Reid et al., 1969) e solução nutritiva (Reid et al., 1971) apresentaram alta correlação com a produção de grãos no campo sem a adição de calagem.

Genótipos de soja selecionados para tolerância ao alumínio em solução nutritiva apresentaram menor redução no crescimento em solos com alta saturação de alumínio em relação às seleções não tolerantes (Hanson & Kamprath, 1979). Sapro et al. (1982) encontraram uma correlação positiva entre comprimento radicular relativo em solução nutritiva contendo Al e massa seca relativa de raízes de cultivares de soja em potes com solo ácido. Resposta similar entre a seleção para tolerância ao Al em laboratório e a desempenho no campo foram identificadas em genótipos de sorgo (Duncan et al., 1983). Para três cultivares de aveia, a ordem de tolerância a solos ácidos em potes (casa de vegetação) e no campo concordou com a ordem de tolerância ao alumínio em solução nutritiva (Bilski & Foy, 1987). A tolerância diferencial ao alumínio de dois genótipos de *Bothriochloa intermedia* (R. Br.) A. Camus, em solução nutritiva foi confirmada em experimento em potes com solo (Foy et al., 1989).

Garland Campbell & Carter (1990) encontraram boa concordância entre a ordem de tolerância de cultivares de soja determinada em solução nutritiva e em potes com solo ácido apresentando alumínio tóxico; Souza (2001), cita que os experimentos em hidroponia e solo são igualmente eficientes na seleção de soja tolerante ao alumínio. O “ranking” de três genótipos de sorgo baseado na massa seca de parte aérea e raiz e comprimento radicular obtidos em potes com solo por quinze dias foi similar a seu desempenho no campo em solo ácido (Baligar et al., 1995). No entanto, a ordem de tolerância em solução nutritiva diferiu um pouco daquela obtida no campo.

O crescimento radicular relativo em solução nutritiva mostrou correlação positiva significativa com a produção de milho no campo em solo ácido com toxicidade de alumínio (Urrea-Gómez et al., 1996). Liu et al. (1996) compararam o efeito do alumínio sobre o crescimento relativo e as massas secas de raízes e parte aérea e obtiveram resultados para espécies e subespécies de *Festuca* extremamente similares entre três meios de crescimento distintos (solo ácido, areia e solução nutritiva).

Horst (1985) não encontrou correlação linear significativa entre a diminuição do crescimento de plântulas de caupi crescidas por sete dias em solo com alumínio tóxico e a produção de grãos. Hill et al. (1989) também não encontraram uma completa concordância entre os sistemas de seleção de genótipos de sorgo em solo e solução nutritiva.

Em experimento com soja, de onze cultivares testadas para tolerância ao alumínio em solução nutritiva (teste rápido de alongação radicular) e solo, apenas duas obtiveram a mesma classificação quanto à tolerância ao alumínio (Sartain & Kamprath, 1978). Campbell et al. (1989, 1990) encontraram correlação insatisfatória entre pesos relativos de alfafa (*Medicago sativa*) e trevo vermelho em potes com solo (casa de vegetação) e em solução nutritiva.

Horst & Klotz (1990) não encontraram relação entre a tolerância genotípica de soja ao alumínio em solução nutritiva e adaptação genotípica a um solo ácido com alto teor de alumínio. Hanson (1991) detectou variabilidade genética para tolerância ao alumínio medida por seleção em solução nutritiva simples em uma população de soja na fase de plântula. Porém, a tolerância nessa fase não se associou com a tolerância sob condições de casa de vegetação (potes com solo). Resultados de avaliações do comprimento da maior raiz de populações segregantes de trigo crescidas em solo e em solução nutritiva não foram inteiramente consistentes; a frequência de plantas F₂ suscetíveis aumentou com o incremento da concentração de alumínio na solução nutritiva (Bona et al., 1994).

A baixa correlação entre os resultados obtidos com plantas crescidas no solo e em solução nutritiva pode ser atribuída a uma ou mais das seguintes causas: (a) indivíduos na fase

de plântula e adulta diferem em tolerância ao alumínio (Wheeler, 1994; Horst & Klotz, 1990); (b) atuação de sistemas genéticos diversos em plântulas em comparação com plantas adultas ou em diferentes níveis de estresse de alumínio (Carver et al, 1995); (c) fatores físicos e nutricionais do solo, os quais podem diferir sob condições controladas ou de campo, modificam a tolerância ao alumínio (Horst & Klotz, 1990); (d) a acidez do solo interage com a simbiose *Rhizobium*/leguminosa responsável pela fixação de N₂ (no caso de leguminosas) (Horst & Klotz, 1990); (e) a inibição do crescimento radicular pelo alumínio não é o principal responsável pela redução do crescimento em condições de campo sob solo ácido (Hanson, 1991; Horst & Klotz, 1990); (f) efeitos da composição da solução na precipitação, polimerização e atividade do alumínio (Baligar et al., 1995; Hill et al., 1989); (g) efeitos de íons específicos e força iônica na morfologia e fisiologia radicular (Blamey et al., 1991); (h) envolvimento de mecanismos de tolerância diferentes nos dois meios (Campbell et al., 1990); e (i) intensidades de estresses de alumínio diferentes (Hanson, 1991; Campbell et al., 1990).

Outra possível razão para a resposta diferencial nos dois meios é a variação na eficiência de absorção de nutrientes (Baligar et al., 1995; Campbell et al., 1990). Plantas avaliadas em solo com alumínio tóxico estariam provavelmente expostas à deficiência hídrica e de nutrientes, além do estresse de alumínio; para plantas crescidas em solução nutritiva, a deficiência de nutrientes não seria um fator importante (Campbell et al., 1990; Foy et al., 1974). Segundo Jacob Neto (1993), embora a toxicidade de alumínio em solução nutritiva possa ser tão intensa quanto no solo, a mortalidade de plantas pode ser menor, pois o sistema radicular afetado pelo alumínio mantém alguma capacidade de absorção de nutrientes. No solo, caso o sistema radicular esteja deficiente, a absorção de nutrientes com baixa mobilidade pode se tornar bastante precária.

Um dos métodos mais eficientes e baratos de localizar o alumínio no apoplasto e assim selecionar grandes populações de plantas é por meio do uso de corantes químicos de raízes crescidas em meio hidropônico, como violeta pirocatecol-PVC ou a hematoxilina (Rossiello & Jacob Neto, 2006). O método de avaliação com uso do violeta de pirocatecol apresenta como grande vantagem a formação de uma mancha de cor azul, como característica do efeito do alumínio, que é facilmente reconhecida e que pode ser vista sem necessidade de microscopia sendo a concentração de 1,1mM de violeta de pirocatecol o melhor nível para colorir o alumínio na raiz de feijão (Jacob Neto, 1993).

Arantes et al (1998), observaram que a intensidade de coloração provocada pela hematoxilina nas raízes de milho, estava relacionada com a quantidade de alumínio presentes nas mesmas. Braccini et al (1996) examinando plântulas de feijão verificou que a coloração das raízes pela hematoxilina mostrou ser um método rápido, mas que não deve ser adotado como um único parâmetro. Braccini et al (2000) avaliando com uso de hematoxilina a coloração das raízes de genótipos de café para caracterizar a tolerância à toxidez de alumínio, verificou que a hematoxilina não se caracterizou como um método de discriminação promissor para selecionar genótipos de café quanto a tolerância ao alumínio

Os parâmetros morfológicos ligados ao sistema radicular também permitem reconhecer a tolerância diferencial ao alumínio (Vasconcelos et al, 2002). Sendo o alongamento radicular para avaliação da toxidez do alumínio em plântulas de soja simples com curta duração e baixo custo (Spehar & Makita, 1994) e também se caracteriza por ser um dos indicadores mais sensíveis ao alumínio na avaliação da cultura do arroz (Vicente et al., 2004). Cambraia et al (1991) consideram que a medida de alongamento do sistema radicular em sorgo evidencia de modo claro e simples, as diferenças entre os cultivares quanto a tolerância ao alumínio. O comprimento da maior raiz foi considerado o parâmetro ideal, porque além de dar resultados mais consistentes e ser facilmente avaliado, não danifica as plantas possibilitando o seu transplante para o campo para posteriores observações e/ou produção de sementes.

Rossiello & Jacob Neto (2006), entre outros parâmetros de estimativa das taxas de alongamento radicular, citam que com mais frequência expressa-se a medida do comprimento radicular relativo para avaliação da influência do alumínio no alongamento radicular. Para Vasconcelos et al (2002), apenas os parâmetros morfológicos ligados ao sistema radicular permitem reconhecer a tolerância diferencial ao alumínio e o uso da alongação radicular relativa, permite encurtar o tempo de exposição e diminuir as concentrações necessárias à expressão de diferenças varietais em tolerância ao alumínio. Os experimentos foram realizados com objetivo de estudar a resposta na tolerância de plântulas do *Arachis pintoi* propagadas por sementes ou de forma vegetativa a diferentes níveis de concentração de alumínio, identificando os níveis de concentração tóxicos e as principais expressões de toxidez, assim como a resposta da planta aos corantes radiculares.

Nesta tese, inicialmente foram realizados dois experimentos em condições controladas com solução simples de alumínio em diferentes épocas utilizando-se plantas propagadas por sementes, com objetivo de determinar o ponto de inflexão que expressasse o provável nível de toxidez do alumínio em *Arachis pintoi*.

Para estes estudos foram utilizadas as sementes da cultivar Amarillo, esta opção deveu-se ao fato de que apesar das dificuldades serem possível sua aquisição no estado do Rio de Janeiro. A cultivar Belmonte e o acesso BRA-031534 não foram utilizados nestes estudos iniciais devido às características apresentadas pela cultivar Belmonte em produzir poucas sementes. O acesso BRA-031534 apesar de diferentemente da Belmonte apresentar uma boa produção de sementes, ainda não estão sendo comercializadas e a pequena quantidade de sementes fornecidas pela EMBRAPA-ACRE, apresentavam baixa percentagem de germinação.

No primeiro teste, foi feita opção pelas concentrações de alumínio variando de 10µM, 20µM, 40µM, 80µM e 160µM com a escolha destas concentrações baseada nas informações de Rao & Kerridge (1993), que sugerem uma quelatização ou compartimentalização realizada pelo *Arachis pintoi* para superar os efeitos tóxicos do alumínio e conseqüentemente a sua aclimação a solos ácidos. O indicador de sensibilidade utilizado neste experimento foi a redução do comprimento da raiz, que conforme Zonta et al (2006), representam na plântula, uma das principais características da toxidez do alumínio.

Obtidos os dados, foi estabelecida a curva e seu provável ponto de inflexão, o que permitiu a realização de novo experimento nas concentrações 2µM, 4µM, 8µM, 16µM e 32µM. O resultado destes dois experimentos, analisados em conjunto permitiram a determinação do ponto de inflexão e da equação da reta ($y = 0,0469x^2 - 1,0743 + 10,444$). Pelo cálculo de derivadas estimou-se um provável nível de toxidez de alumínio no *Arachis pintoi* cultivar Amarillo.

Estes resultados permitiram estabelecer diferentes concentrações de alumínio para os testes em solução nutritiva completa, utilizando-se as duas cultivares (Amarillo e Belmonte), o acesso BRA-031534 com propagação por sementes e por estolões.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Tolerância ao alumínio no crescimento de plântulas da cultivar *Amarillo* propagadas por sementes

As sementes da cultivar *Amarillo* e do acesso BRA-031534, após o recebimento foram armazenadas em câmara fria no Instituto de Floresta com controle de umidade e temperatura. Antes do plantio foram desinfestadas superficialmente mediante imersão por trinta minutos em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) – 4 a 6% P.A. a 2% seguida de lavagem por 30 minutos em água destilada (Brasil, 1992).

As sementes tratadas foram colocadas para germinar em bandejas com areia, no Experimento I as plântulas atingiram o tamanho para transplântio sem emissão da parte aérea em cinco dias e o comprimento médio da raiz principal de 4,93cm, para o Experimento II o período para transplântio foi de cinco dias com comprimento médio da raiz principal de 3,6cm. As plântulas foram lavadas com água deionizada para retirar a areia, e transferidas de forma casualizada para os potes conforme Vasconcelos (1997), obedecendo a uma padronização, com isto evitando-se a colocação das melhores plantas (comprimento radicular) nos primeiros potes (concentração de alumínio mais baixa) e as piores plantas (comprimento radicular menor) nos últimos potes (concentração mais alta de alumínio). Os potes foram feitos com garrafas plásticas de água mineral cortada, com capacidade para 250ml da solução de alumínio [Al₂(SO₄)₃.16H₂O]. Foi usado isopor para suporte das plântulas, observando-se ainda a precaução para que as raízes estivessem em total contato com a solução. Cada pote possuía um sistema de aeração contínuo, através de tubos plásticos com agulha descartável na sua extremidade em contato com a solução, sendo o ar fornecido por bombas de ar utilizadas em aquário.

Os potes receberam luz artificial regulada por timer, com controle de fotoperíodo de 12 horas de luz (06:00 às 18:00 horas) e 12 horas de escuro (18:00 às 06:00 horas). A intensidade luminosa foi de 511 Lux, determinada com uso de aparelho da marca Lutron.LX-102, Light Meter, e as temperaturas variaram de uma mínima de 21°C a uma máxima de 32°C.

Os estudos com as diferentes soluções de alumínio tiveram as soluções estoques preparadas com adição de duas gotas de HNO₃ (ácido nítrico) para evitar a precipitação do alumínio, e armazenadas em geladeira.

O experimento foi conduzido em solução simples em câmara de crescimento, com delineamento experimental de blocos ao acaso, com cinco repetições e no Experimento I envolveu os seguintes tratamentos T₁: 0μM (Testemunha), T₂: 10μM, T₃: 20μM, T₄: 40μM, T₅: 80μM e T₆: 160μM de alumínio para o Experimento II os tratamentos constaram das seguintes concentrações de alumínio T₁: 0μM (Testemunha), T₂: 2μM, T₃: 4μM, T₄: 8μM, T₅: 16μM e T₆: 32 μM de alumínio (Al₂(SO₄)₃.16H₂O). Após o período de sete dias em relação ao plantio nos potes, foram avaliados os parâmetros relativos ao comprimento da raiz primária no momento do transplântio e no terceiro e sétimo dia após o transplântio, peso da massa seca da raiz, peso da massa seca da parte aérea e o comprimento relativo conforme fórmula abaixo (Rossiello & Jacob Neto, 2006).

$$CRR = \frac{Cf_{+Al}}{Cf_{Al0}} \times 100$$

Cf_{+Al} : Comprimento final das raízes sob alumínio.

Cf_{Al0} : Comprimento final das raízes controle.

Os pesos foram determinados com uso de balança de precisão, modelo Marte, após a secagem por 72 horas em estufa de circulação de ar marca Biomatic, a 68°C.

Os corantes, violeta pirocatecol e hematoxilina (corantes radiculares), foram utilizados para avaliar a tolerância ao alumínio. Duas amostras de plântulas de cada tratamento foram colocadas em becker com água deionizada por 5 minutos para retirada do excesso de alumínio na raiz. A seguir, uma plântula de cada tratamento foi colocada na solução de violeta de pirocatecol por 15 minutos e a outra plântula colocada na solução de hematoxilina por 40 minutos. Após este período as plântulas retiradas da solução com corante foram avaliadas com relação a intensidade da coloração da raiz.

Esta avaliação foi feita sob o esquema de notas atribuídas por três pessoas, e a média das três notas determinada, conforme escala estabelecida:

- 1- Não afetada (sem cor azul).
- 2- Pouco afetada (pequena percentagem de cor azul).
- 3- Afetada (cor azul na maior parte da raiz).
- 4- Muito afetada (cor azul sobre toda a raiz).

A solução do corante foi preparada conforme especificado abaixo:

- Corante Violeta de Pirocatecol (Jacob Neto, 1993):

- 1- 2ml de pirocatecol 1,0µM;
- 2- 30ml de água deionizada.

- Corante Hematoxilina (Polle et al, 1978).

- 2g de hematoxilina;
- 0,2g de NaIO₃;
- 2 gotas de NaOH 0,1M;
- 1 litro de água deionizada.

Os experimentos apresentaram as seguintes variações:

a. Experimento: I

As plantas atingiram o tamanho para o transplântio, sem emissão da parte aérea em cinco dias com o comprimento médio da raiz principal de 4,93cm. Foram utilizadas as seguintes concentrações de alumínio (10µM, 20µM, 40µM, 80µM e 160µM).

b. Experimento: II

As plantas atingiram o tamanho para o transplântio, sem emissão da parte aérea em cinco dias com o comprimento médio da raiz principal de 3,60cm. Foram utilizadas as seguintes concentrações de alumínio (2µM, 4µM, 8µM, 16µM e 32µM).

3.4.2 Tolerância ao alumínio no crescimento de plântulas de *Arachis pintoi* propagadas por sementes e propagação vegetativa

O delineamento experimental estabelecido em blocos ao acaso com seis níveis de alumínio T₁: 0µM (Testemunha), T₂: 20µM, T₃: 40µM, T₄: 80µM, T₅: 160µM, T₆: 320µM de alumínio, na fórmula de Al₂(SO₄)₃.16H₂O, e cinco repetições.

As plântulas propagadas por sementes ou estolões, foram transferidas para potes feitos com garrafas de refrigerante PET com capacidade para um litro de solução nutritiva e os recipientes foram ainda recobertos com papel alumínio (laminado) para evitar o aparecimento de algas.

O período experimental foi de vinte e oito dias para a cultivar Amarillo e de vinte e um dias para o acesso BRA-031534, o local de condução de experimento, procedimentos para

germinação das sementes, transplântio, fixação de plântulas, sistema de aeração, luminosidade, temperatura e as avaliações foram realizados conforme item 3.4.1. O experimento com propagação vegetativa teve a duração de trinta dias e os estolões sem raízes aparentes, foram coletados no dia do plantio e uniformizados para o comprimento de aproximadamente 20 cm.

A solução nutritiva utilizada foi preparada com os nutrientes especificados nas tabelas abaixo, com adição de 02 gotas de ácido nítrico na solução estoque para evitar a precipitação do alumínio.

Tabela 1 Solução nutritiva para macronutrientes (solução estoque) estabelecida por Jacob Neto (1993).

Composto Químico	Quantidade
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,2 mM
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 mM
K ₂ SO ₄	0,5 mM
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	0,2 mM
NH ₄ NO ₃ .H ₂ O	2,0 mM

Tabela 2 Solução nutritiva para micronutrientes (solução estoque) estabelecida por Jacob Neto (1993).

Composto Químico	Quantidade
NaFeEDTA	10µM
MnSO ₄ .4H ₂ O	0,4µM
ZnSO ₄ .H ₂ O	0,16µM
CoSO ₄ .7H ₂ O	0,04µM
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2,06µM
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,04µM
pH	4,5

A solução nutritiva aplicada (Jacob Neto, 1993) foi preparada a partir de solução estoque, no dia do plantio adicionando-se 1mL da solução de micronutriente e 1mL de cada solução de macro. A solução nutritiva de cada pote trocada de sete em sete dias, fazendo-se avaliações das mudanças de pH com uso do pH-metro. O pH da solução foi ajustado com HCl ou NaOH ao pH 4,5. Na preparação da solução nutritiva o pH ficou ajustado para 4,5.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Experimento I

O comprimento do sistema radicular do amendoim forrageiro foi influenciado pelas diferentes concentrações de alumínio ($0\mu\text{M}$, $10\mu\text{M}$, $20\mu\text{M}$, $40\mu\text{M}$, $80\mu\text{M}$ e $160\mu\text{M}$) utilizadas neste experimento e a partir do terceiro dia após o transplante, foram observadas diferenças significativas ($\text{CV}=15\%$) entre os tratamentos utilizados (Figura 6).

A testemunha (sem alumínio) diferiu significativamente de todas as concentrações de alumínio estudadas, observando-se que as concentrações de alumínio não diferiram estatisticamente entre si, indicando influência do alumínio no crescimento geral da raiz já na concentração de $10\mu\text{M}$ (Figura 1 e Figura 2).

Estes resultados estão de acordo com trabalhos realizados anteriormente com feijão e soja, demonstrando que o alumínio acumula-se principalmente na raiz (Jacob Neto, 1993) e que o sistema radicular apresenta sensibilidade ao alumínio, com conseqüente inibição do crescimento da área e do comprimento da raiz de arroz (Zonta et al. 2003), em alfafa e trevo vermelho (Caetano et al. 2002); em soja (Menosso et al. 2000), Ryan et al (1993) em milho. Menosso et al (2001) observam que o crescimento da raiz primária é uma característica considerável no processo de seleção em termos de tolerância ao alumínio em soja.

Ao final do experimento, através do cálculo do comprimento relativo, observou-se uma redução percentual relativa em relação à testemunha para todas as concentrações estudadas, com a menor concentração de $10\mu\text{M}$, apresentando um índice de redução de aproximadamente 42% (Figura 2).

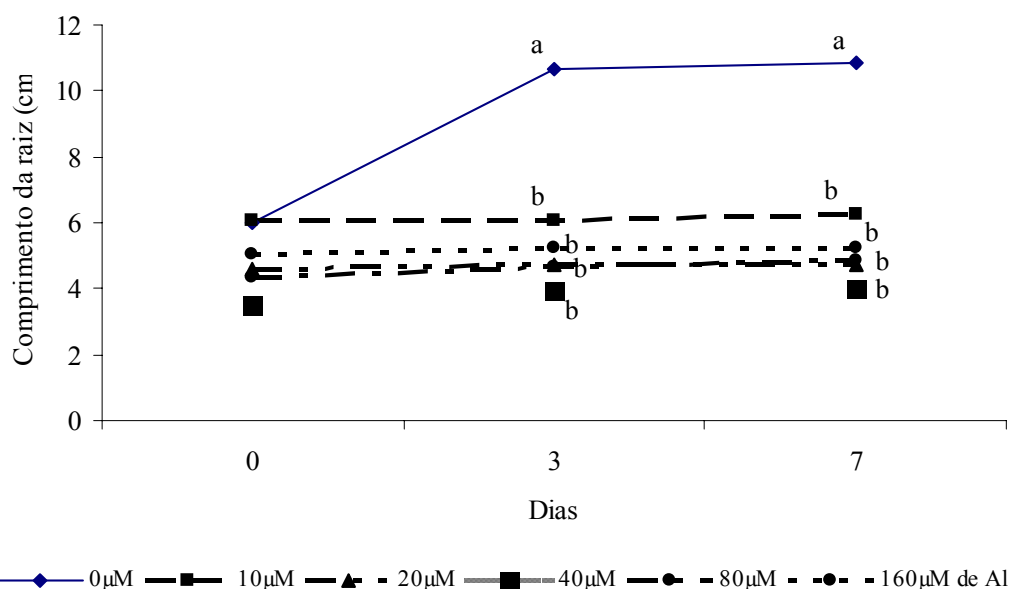


Figura 1 Comprimento da raiz primária do *Arachis pintoi* cv. Amarillo submetidas a diferentes concentrações de alumínio. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. $\text{CV}=15\%$.

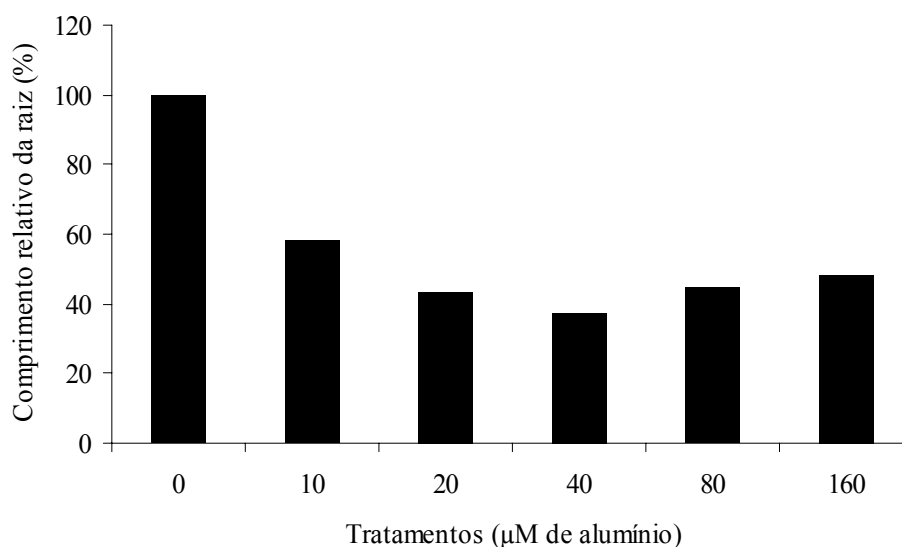


Figura 2 Comprimento relativo da raiz primária do *Arachis pintoi* cv. Amarillo no sétimo dia após o transplantio.

O peso da massa seca da raiz foi influenciado significativamente (CV=23%) pelos tratamentos estudados (Figura 3), com o tratamento testemunha diferindo significativamente dos tratamentos com 80μM e 160μM de alumínio, mas não diferindo estatisticamente das concentrações de 10μM, 20μM e 40μM. O efeito do alumínio na redução deste componente morfológico, foi observado por vários autores: Veloso et al, (2000) em pimenta do reino, Villagarcia et al, (2001) em soja, Toneatti & Rivera, (2006) em *Bromus*, Torrealba et al, (1998), Santos et al (1999) em *Citrus*.

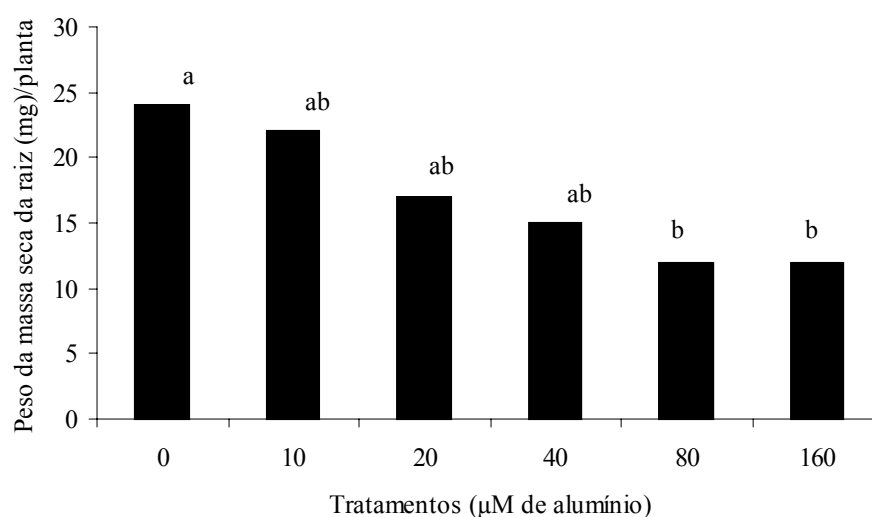


Figura 3 Peso da massa seca da raiz do *Arachis pintoi* cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio durante sete dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=23%.

Não foram observadas diferenças significativas (CV=30%) entre os tratamentos com diferentes níveis de alumínio, quando avaliado o peso da massa seca da parte aérea (Figura 4), o que provavelmente ocorreu por não ser este o parâmetro que expresse com maior rapidez e maior eficiência os sintomas de toxidez provocada pelo alumínio.

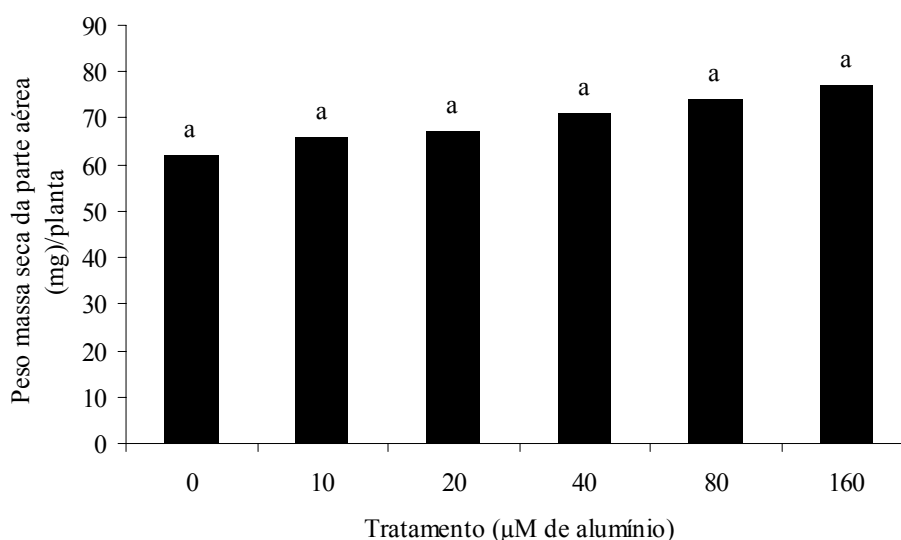


Figura 4 Peso da massa seca da parte aérea do *Arachis pintoi* cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio, durante sete dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=30%.

Em relação à presença dos indicadores de efeito deletério do alumínio na raiz, tais como o aumento da mucilagem e o escurecimento da raiz primária, foram observados nas plantas nos tratamentos com concentração de $10\mu\text{M}$ a $40\mu\text{M}$ escurecimento na ponta da raiz. Nas demais concentrações acima de $80\mu\text{M}$, além do escurecimento de toda a raiz, foi observada a presença de mucilagem (Figura 5), que se tornou mais densa com o aumento da concentração de alumínio, Zonta et al (2006) destacam que além da atividade de lubrificante que a mucilagem exerce, ela também tem a função de proteção contra substâncias tóxicas do solo.

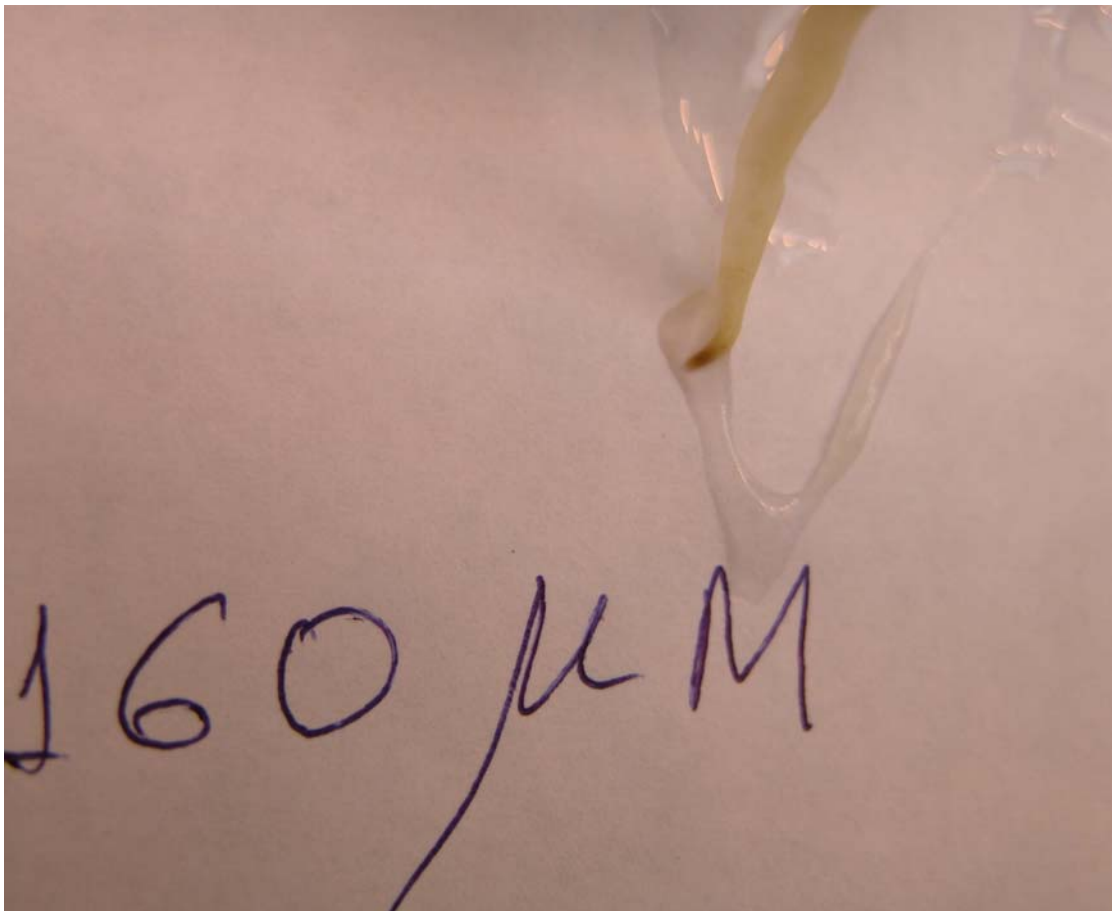


Figura 5 Raiz de *Arachis pintoi* com presença de mucilagem provocada pelas diferentes concentrações de alumínio aos sete dias após a exposição ao alumínio.



Figura 6 Efeitos de diferentes concentrações de alumínio no comprimento da raiz primária do *Arachis pintoi* cv. Amarillo aos sete dias após a exposição ao alumínio.

3.5.2 Experimento II

A exposição das plantas a diferentes concentrações de alumínio, influenciou significativamente ($CV=27\%$) o desenvolvimento radicular do amendoim forrageiro (Figura 7 e 8).

Pela Figura 7 observa-se que as diferentes concentrações de alumínio influenciaram o comprimento da raiz do *Arachis pinto* e que as concentrações de $2\mu\text{M}$, $4\mu\text{M}$ e $8\mu\text{M}$ diferiram significativamente das concentrações de $16\mu\text{M}$ e $32\mu\text{M}$, que apresentaram menor comprimento da raiz primária quando comparados aos demais tratamentos (Figura 13). Estes resultados então de acordo com Echart & Cavalli-Molinias (2001) e Zonta et al (2006) que afirmam ser a toxidez do alumínio um impedimento de natureza química que reduz o crescimento das plantas tendo como sintoma inicial a inibição do crescimento da raiz, que segundo Brady et al (1993) é provocada pela limitação no crescimento da ponta da raiz que é o primeiro efeito provocado pelo alumínio.

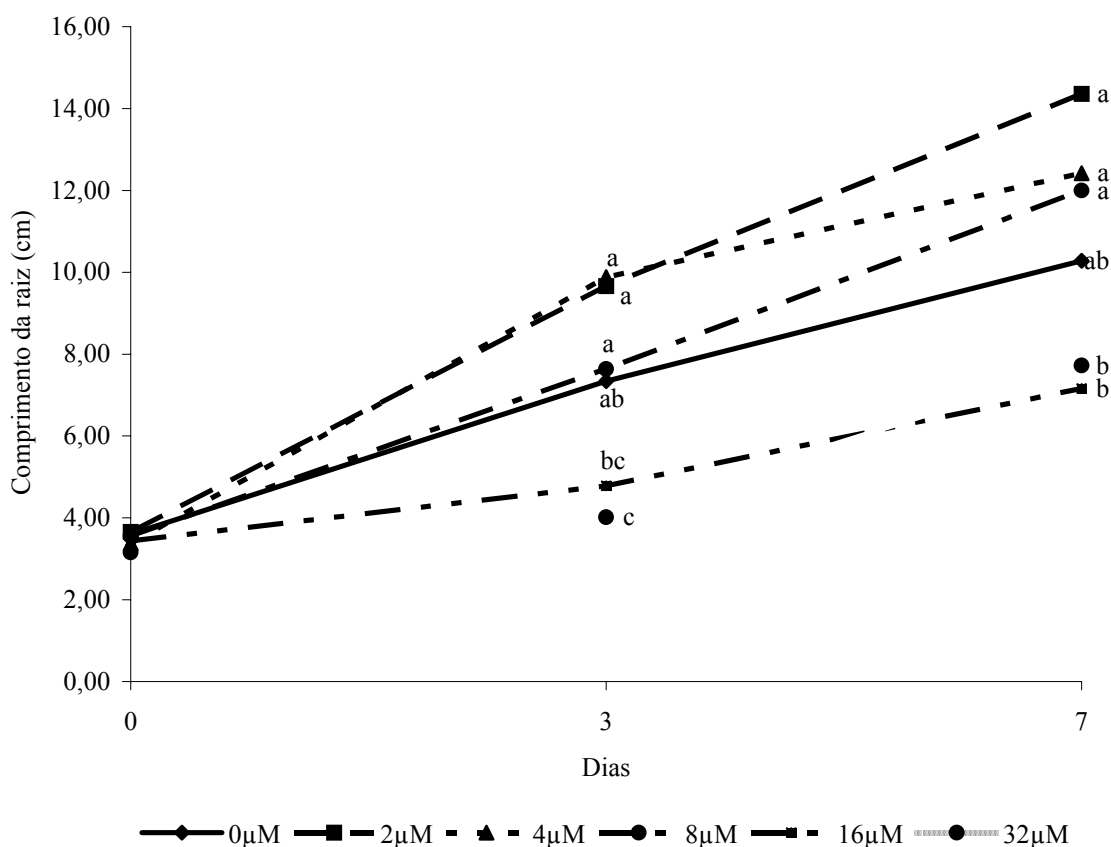


Figura 7 Comprimento da raiz primária do *Arachis pinto* cv. Amarillo submetidas a diferentes concentrações de alumínio. Valores seguidos pela mesma letra, em cada época não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. $CV=27\%$.

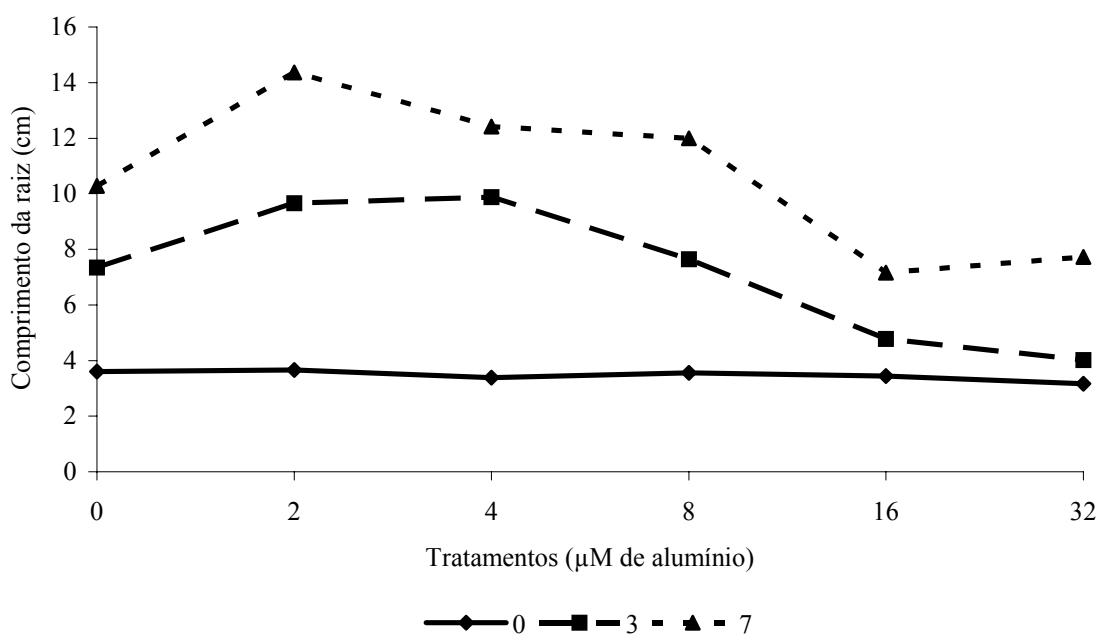


Figura 8 Efeito das épocas de avaliação (Inicial, 3 e 7 dias após o transplante), no comprimento da raiz primária do *Arachis pintoi* cv. Amarillo, submetido a diferentes concentrações de alumínio.

No presente estudo o uso do comprimento relativo mostra a influencia do alumínio neste parâmetro e confirma esta tendência ao exibir uma redução no comprimento da raiz nas concentrações de 16μM e 32μM com um índice de redução de aproximadamente 27% se comparado ao tratamento de 16μM com a testemunha (Figura 9). Estimativas das taxas de alongamento radicular tem fornecido bons resultados na avaliação dos efeitos inibitórios provocado pelo alumínio no desenvolvimento da raiz seja na cultura do sorgo, (Cambraia et al, 1991), em soja (Vicente et al, 1997; Spehar & Makita, 1994).

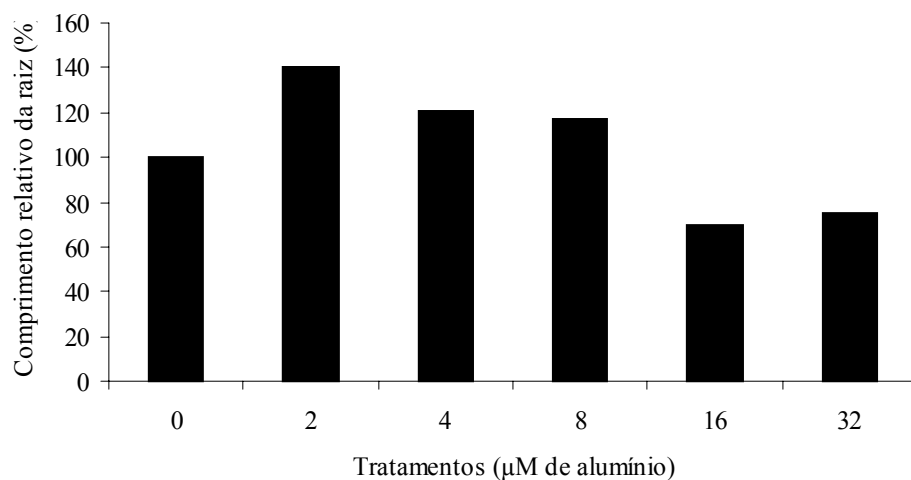


Figura 9 Comprimento relativo da raiz primária do *Arachis pintoi* cv. Amarillo com 7 dias após o transplante.

O peso da massa seca da raiz não mostrou diferença significativa entre os tratamentos testados. Porém a avaliação da Figura 9 permitiu observar que a concentração de $8\mu\text{M}$ serve como limite para o início das atividades de toxidez do alumínio no sistema radicular. O peso da massa seca da parte aérea não apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos ($\text{CV}=21\%$). Neste experimento (Figura 10) observou-se que ocorreu um comportamento diferenciado em relação ao Experimento I (Figura 4) demonstrando que este parâmetro neste período experimental (sete dias) não provocou os sintomas de toxidez do alumínio em plântulas de *Arachis pintoi*.

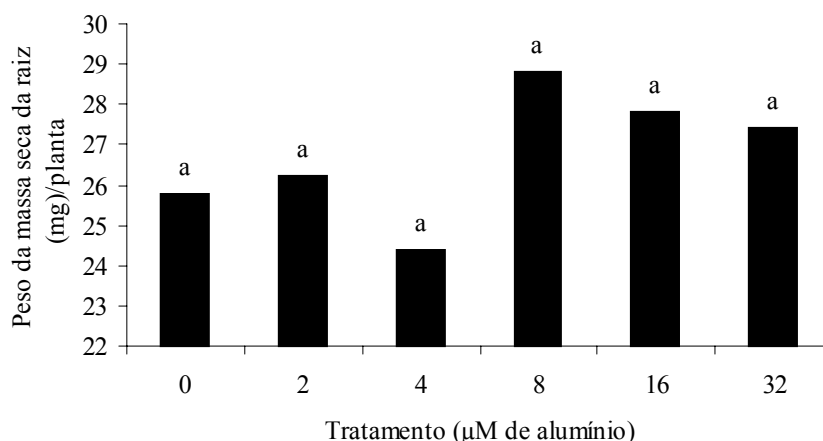


Figura 10 Peso da massa seca da raiz do *Arachis pintoi* cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio durante sete dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. $\text{CV}=32\%$.

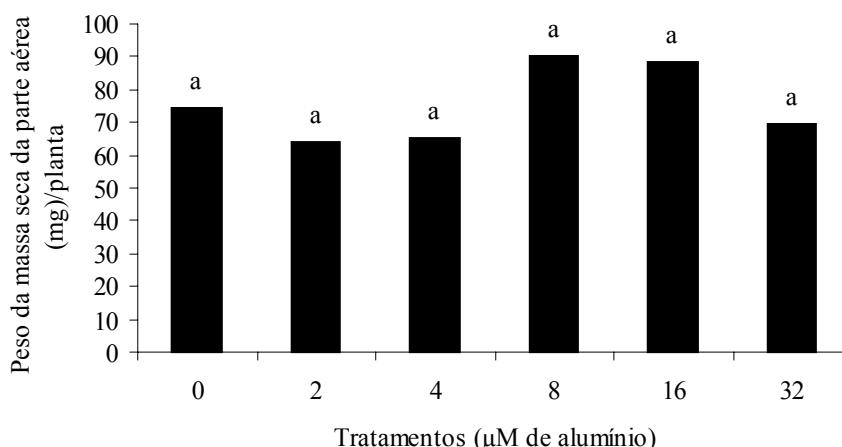


Figura 11 Peso da massa seca da parte aérea do *Arachis pintoi* cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio durante sete dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. $\text{CV}=21\%$.

Tabela 3 Avaliação baseada na análise visual da cor da raiz, de *Arachis pinto*i cultivar Amarelo utilizando o corante Violeta de Pirocatecol. Média de três notas.

Concentração (μM) de alumínio	Notas
0	2
2	2
4	1
8	2
16	3
32	4

A raiz primária apresentou neste experimento a partir da concentração de $16\mu\text{M}$ de alumínio, enrolamento na ponta da raiz prejudicando seu crescimento, além de apresentar escurecimento na ponta da raiz secundária (Figura 12). Na concentração de $32\mu\text{M}$ pode ser observado o escurecimento da raiz primária e da raiz secundária. Estes fatos foram também observados por Menosso et al (2000) que verificaram um atrofiamento e uma limitação ao crescimento da raiz primária em soja e por Curti Junior (2001) que observou enrolamento da raiz em *Ingá marginata* provocados pela ação do alumínio.

Já na concentração de $32\mu\text{M}$, ocorreu o aparecimento de mucilagem que provavelmente se caracterizando como um mecanismo de resistência do *Arachis pinto*i a toxidez provocada pelo alumínio, mecanismo este que foi descrito por Ma (2000) e Ma (2001), observado em soja (Yang et al, 2000), também em arroz de sequeiro (Zonta et al, 2003).

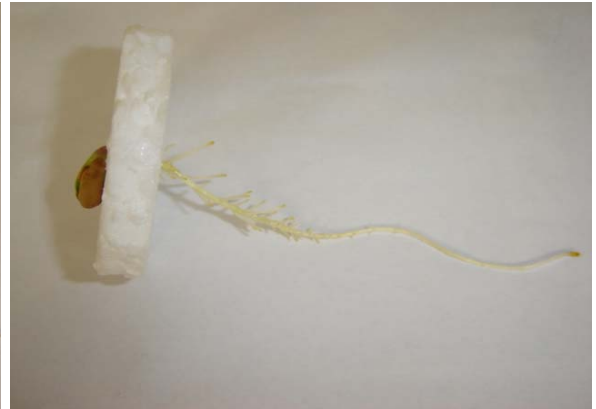
O uso do corante radicular mostrou nas maiores concentrações de alumínio uma resposta diferenciada de coloração à toxidez provocada pelo alumínio (Tabela 1). Observa-se que as maiores notas foram obtidas nas concentrações de $16\mu\text{M}$ e $32\mu\text{M}$, caracterizando a influência do alumínio nas raízes.



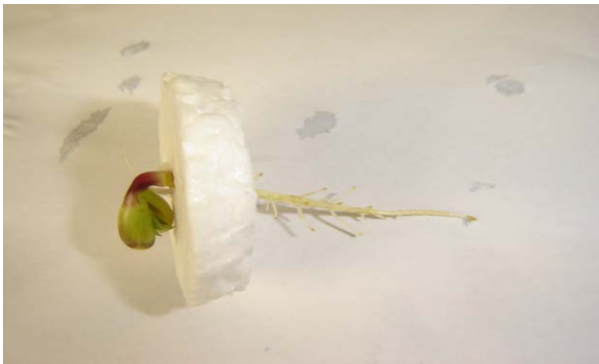
Figura 12 Foto da raiz de *Arachis pintoi* em senescência, com danos provocados pelo alumínio.



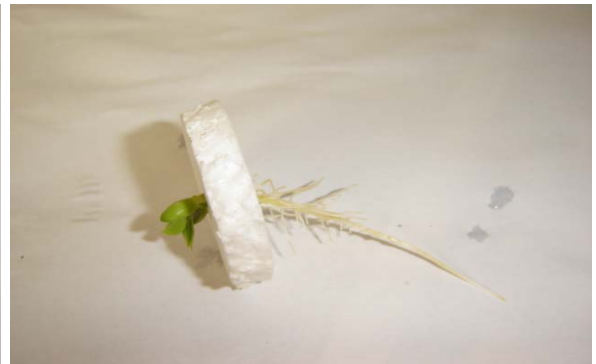
Testemunha



2μM



4μM



8μM



16μM



32μM

Figura 13 Efeito das diferentes concentrações de alumínio no comprimento da raiz de *Arachis pintoi* cv Amarillo.

3.5.3 Tolerância ao alumínio em plântulas da cultivar Amarillo propagadas por sementes

O comprimento da raiz primária do amendoim forrageiro mostrou um comportamento diferenciado entre os níveis de alumínio utilizados. A concentração de 320 μM apresentou um efeito inibitório no crescimento da raiz primária em comparação com as concentrações estudadas (Figura 14), apesar de não diferir significativamente ($\text{CV}=39\%$) em relação aos demais tratamentos. Estes resultados estão coerentes com os obtidos nos itens 3.1, 3.2 e por outros autores como Kidd & Proctor (2000) e Bennet et al (1985) afirmam que o alumínio atua diretamente na divisão celular e no crescimento da raiz.

A raiz principal nas concentrações de 80 μM e 160 μM apresentaram crescimento reduzido durante as três primeiras semanas, porém na quarta semana após o transplante apresentaram comportamento semelhante à testemunha e ao tratamento com concentração de 40 μM . As plântulas submetidas à solução nutritiva com 20 μM de alumínio apresentaram no final do experimento, um crescimento menor que o obtido nos tratamentos testemunha e nas concentrações de 40 μM e 80 μM . O que está de acordo com Delhaize & Ryan (1995) que afirmam ser a inibição do sistema radicular, o sintoma mais facilmente reconhecido da toxicidade do alumínio (Figura 17). Observou-se um crescimento nas concentrações de 40 μM e 100 μM , o que provavelmente se deve a influência do pH e da força iônica.

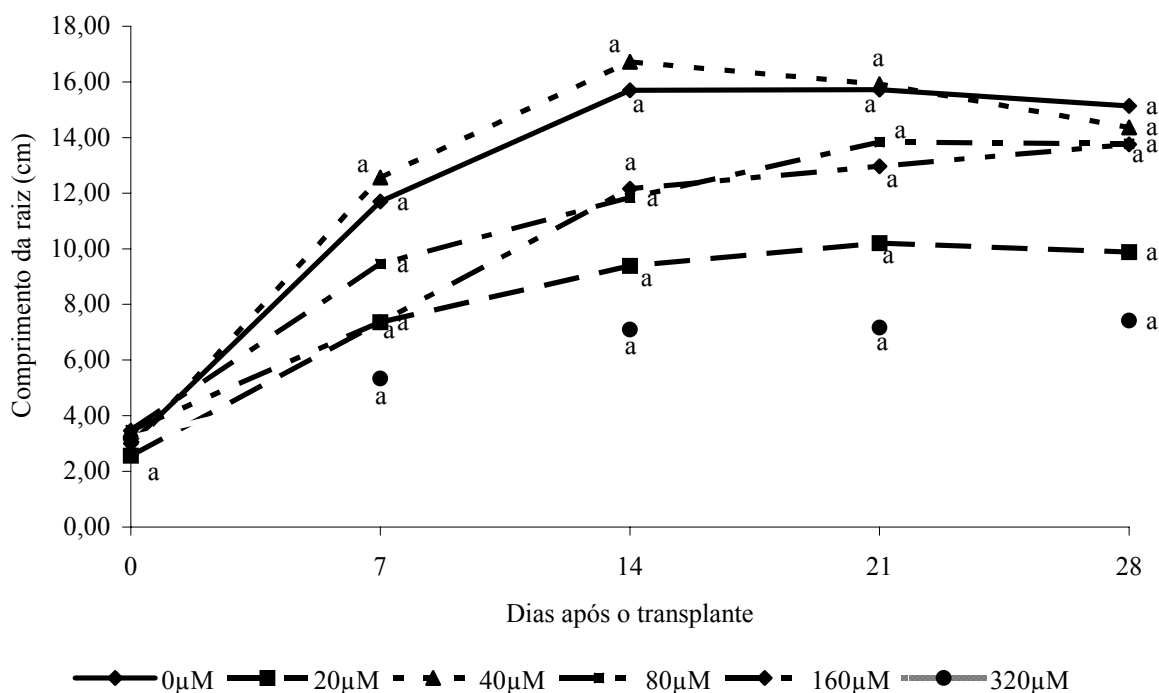


Figura 14 Comprimento da raiz primária do *Arachis pintoi* cv. Amarillo em solução nutritiva. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coleta não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. $\text{CV}=39\%$.

O comprimento relativo da raiz (Figura 2) expressa de maneira clara que a maior concentração de alumínio (320 μM) utilizada neste estudo, provocou um decréscimo de 51%

em relação à testemunha (Figura 5), Vasconcelos (1997) observou que a eficiência relativa foi o parâmetro mais sensível para avaliar a toxidez, o que está de acordo com Delhaize & Ryan (1995) que afirmam ser a inibição do sistema radicular o sintoma mais facilmente reconhecido da toxicidade do alumínio.

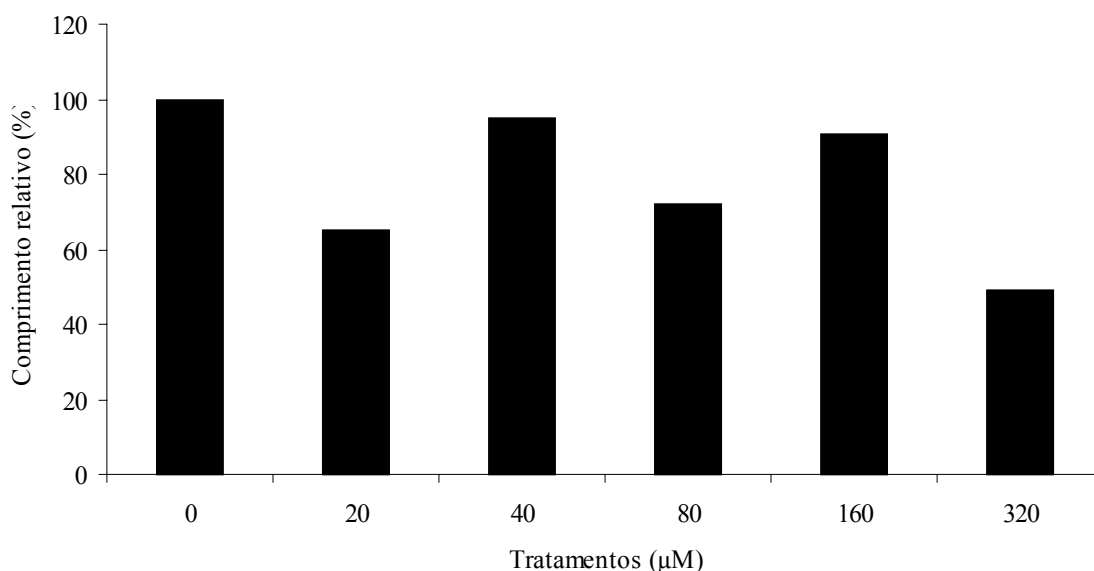


Figura 15 Comprimento relativo da raiz primária do *Arachis pintoi* cv. Amarillo com 28 dias após o transplântio.

O peso da massa seca da raiz não apresentou diferenças significativas ($CV=48\%$) entre os diversos tratamentos estudados, analisando as Figuras 14, 15 e 16, observou-se ao nível de $320\mu\text{M}$ de alumínio, a planta apresenta o menor comprimento radicular, o menor peso de massa seca da raiz e da parte aérea. Estas reduções em termos de massa seca da raiz foram também observadas por Jacob Neto (1993) e Villagarcia (2201).

Como resposta à toxidez provocada pelo alumínio, somente as plantas utilizadas como testemunha não mostraram escurecimento na ponta da raiz principal e durante o experimento, observou-se ainda que a partir da concentração de $80\mu\text{M}$ as plântulas exibiram uma maior incidência de raízes secundárias (dados não tabelados). O escurecimento da ponta da raiz ocorreu, indicando senescência da raiz e necrose das pontas das raízes. Na tentativa de manter o funcionamento das raízes, ocorreu a indução da formação de um número maior de raízes secundárias em resposta ao estresse de alumínio. Nas concentrações acima de $40\mu\text{M}$ foi observada a formação de mucilagem. Este fato também foi verificado por vários autores (Piñeros et al, 2002, Schottelndreier et al, 2001, Li et al, 2000, Larsen, 1998), e seria uma forma de proteção ao estresse provocado pelo alumínio, o qual provavelmente deve ter evitado uma inibição maior do crescimento da raiz primária.

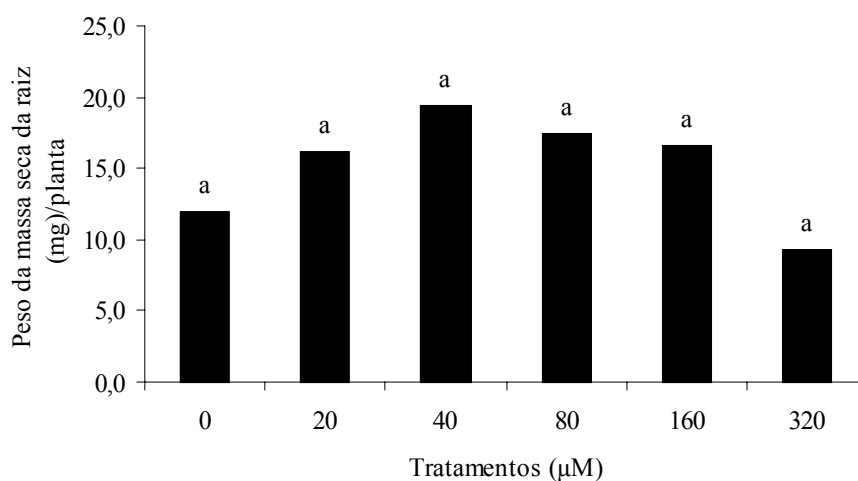


Figura 16 Peso da massa seca da raiz do *Arachis pinto* cv. Amarillo submetidas a diferentes concentrações de alumínio durante vinte oito dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=48%.

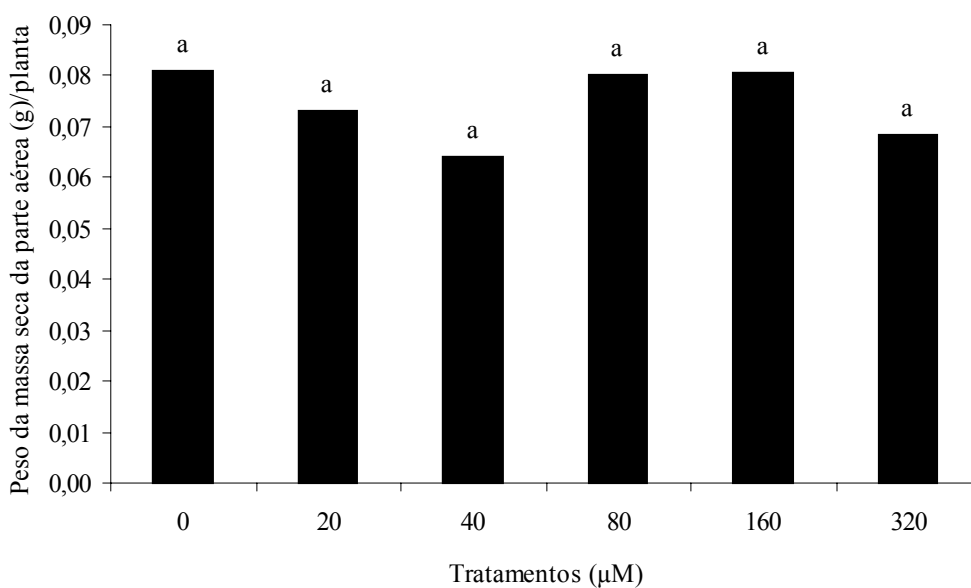


Figura 17 Peso da massa seca da parte aérea do *Arachis pinto* cv. Amarillo submetido a diferentes concentrações de alumínio durante vinte oito dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=29%.



Testemunha



20μM



40μM



80μM



160μM



320μM

Figura 18 Efeito das diferentes concentrações de alumínio na morfologia da raiz de *Arachis pintoi* cv Amarillo

3.5.4 Tolerância ao alumínio em plântulas do acesso BRA-031534 propagadas por sementes

A testemunha apresentou um maior desenvolvimento da raiz primária que os demais tratamentos nos quais foram utilizadas diferentes concentrações de alumínio (CV=48%) (Figura 19), o que já foi observado em outras espécies, como em milho (Ryan et al, 1993), plantas cítricas (Santos et al, 1999) e, portanto pode-se afirmar que a toxicidade do alumínio é um fator limitante para o crescimento de muitas espécies (Foy, 1996a, Foy, 1996b) .

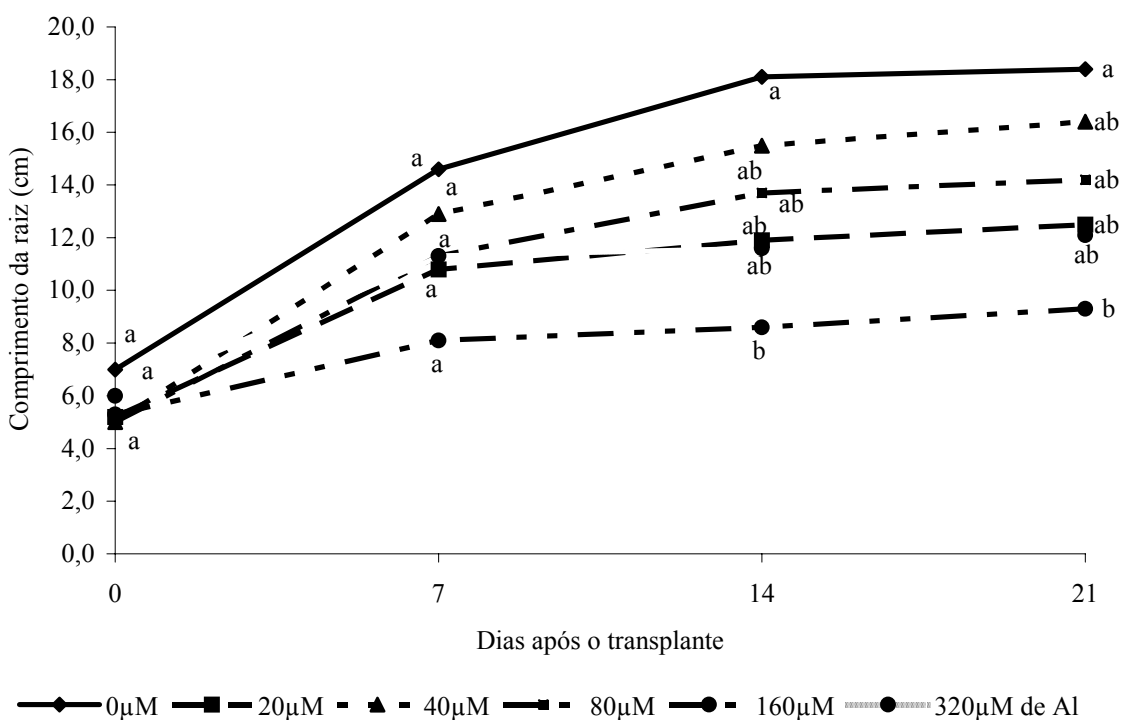


Figura 19 Comprimento da raiz primária do *Arachis pintoi* acesso BRA-031534 em solução nutritiva submetidas a diferentes concentrações de alumínio. Valores seguidos pela mesma letra na mesma coleta não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=48%.

A avaliação do desenvolvimento radicular realizada utilizando o comprimento relativo (Figura 20) indica uma elevada toxicidade para as concentrações de alumínio utilizadas, com uma redução no comprimento da raiz de 49% na concentração de 160 µM em relação à testemunha. O método de avaliação baseado no comprimento radicular se mostrou sensível na avaliação das diferentes concentrações de alumínio em plantas de arroz (Vicente et al, 2004) e apenas os parâmetros morfológicos ligados ao sistema radicular do arroz permitiram reconhecer a tolerância diferencial provocada pelo alumínio (Vasconcelos et al, 2002). Em *Phaseolus vulgaris* Jacob Neto (1993) observou que o alumínio provocava encurtamento do sistema radicular e tais fatos foram também constatados por Jones et al (2006), Toneatti & Rivera (2005), Mazzocato et al (2002), Villagarcia et al (2001), Kollmeier et al (2000) e Clune & Copeland (2004).

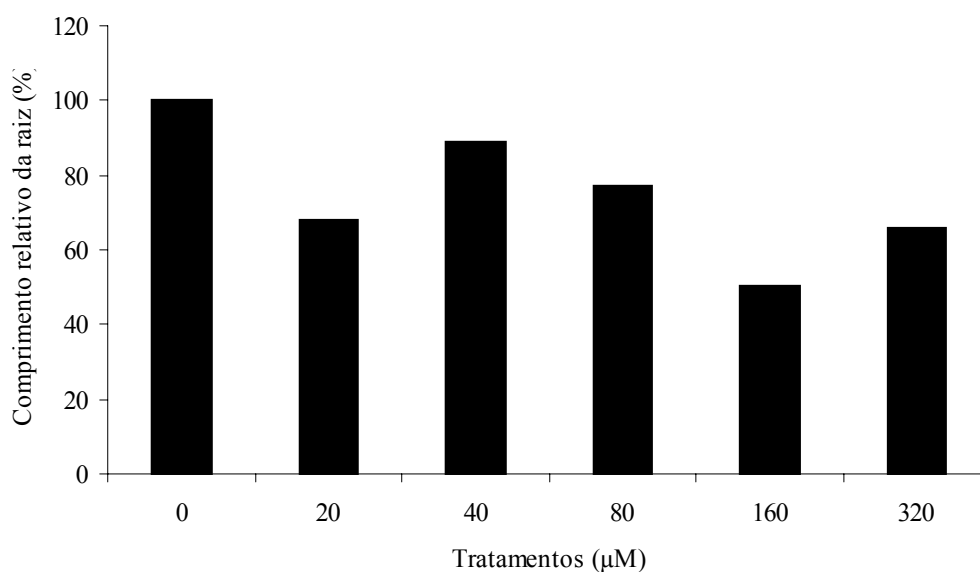


Figura 20 Comprimento relativo da raiz primária do *Arachis pintoi* acesso BRA-031534.

O método para avaliar a tolerância ao alumínio, utilizando o corante químico violeta de pirocatecol (Tabela 4) mostrou diferenças para o tratamento de 320μM de alumínio quando comparado aos demais tratamentos. Ao estabelecermos uma comparação entre a Tabela 4 com a Figura 19 observamos que o corante neste caso não foi eficiente em caracterizar a concentração de 160μM que apresentou diferenças significativas em relação à testemunha para comprimento da raiz. Nascimento (1998) constatou a eficiência deste corante radicular em *Clitoria fairchildiana*. O corante hematoxilina (Tabela 5) mostrou que somente a testemunha apresentou ausência de coloração, e não diferenciando entre si, os diferentes níveis de alumínio utilizados neste estudo, que conforme Arantes et al (1998) está relacionada com a quantidade de alumínio presente na raiz de milho. Analisando a Figura 19 e a Tabela 5, observou-se que este diferencial de coloração é coerente com o crescimento da raiz primária onde todos os tratamentos com alumínio foram inferiores à testemunha, porém conforme Braccini et al (1996) deve-se observar que este corante não deve ser adotado como um único parâmetro. Para o feijão, a hematoxilina não serviu para diferenciar o efeito de diferentes concentrações de alumínio e já na menor concentração, a raiz ficou colorida. Braccini et al, (2000), também verificaram que este corante não se caracterizou como um método promissor para a seleção de genótipos de café.

As avaliações relativas ao peso da massa seca da raiz (CV=33%) (Figura 21) e peso da massa seca da parte aérea (CV=31%) (Figura 22) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas que permitisse uma diferenciação entre os diversos tratamentos testados em relação à toxidez do alumínio.

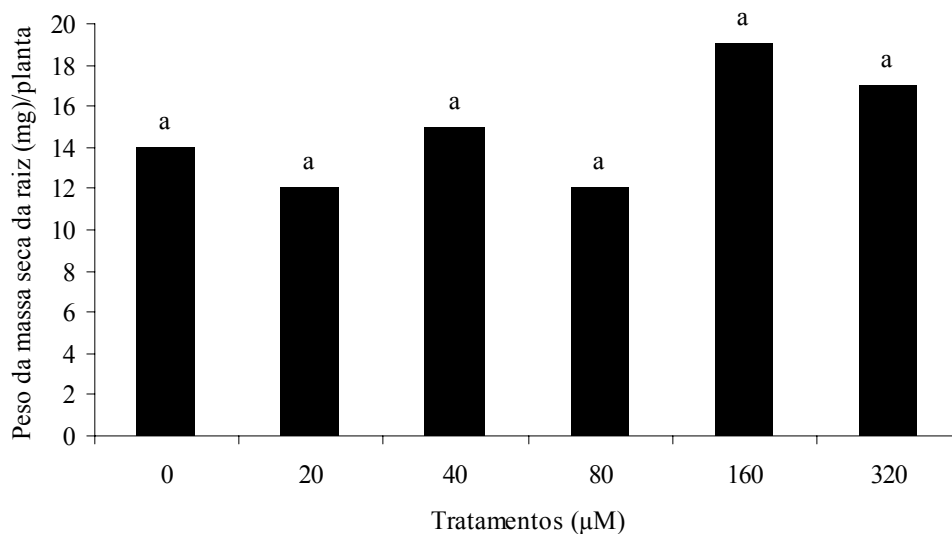


Figura 21 Peso da massa seca da raiz do *Arachis pintoi* acesso BRA-031534 submetidas a diferentes concentrações de alumínio durante vinte e um dias. Valores seguidos pela mesma não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=33%.

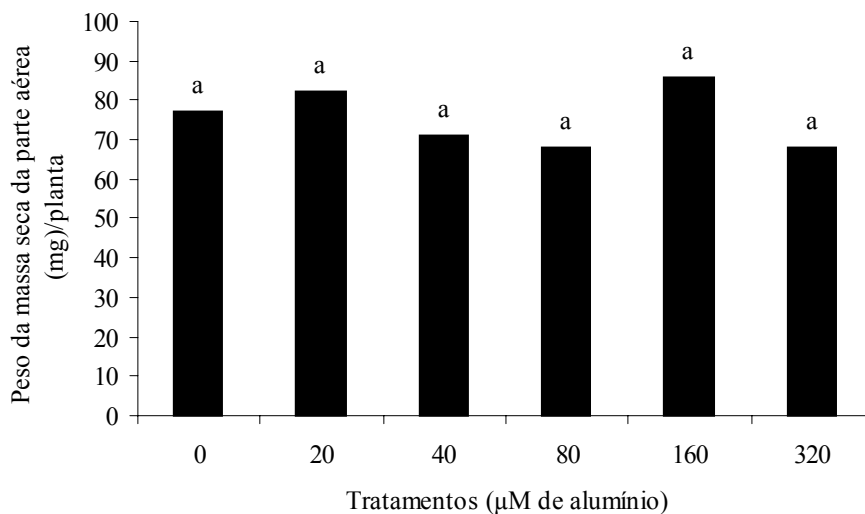


Figura 22 Peso da massa seca da parte aérea de *Arachis pintoi* acesso BRA-031534 submetidas a diferentes concentrações de alumínio durante vinte e um dias. Valores seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV=31%.

Tabela 4 Avaliação baseada na análise visual da cor da raiz, utilizando o corante Violeta de Pirocatecol. Média de três notas.

Concentração (μM) de alumínio	Notas
0	1
20	1
40	1
80	1
160	1
320	3

Tabela 5 Avaliação baseada na análise visual da cor da raiz, utilizando o corante hematoxilina. Média de três notas.

Concentração (μM) de alumínio	Notas
0	1
20	4
40	4
80	4
160	4
320	4

3.5.5 Tolerância ao alumínio em plântulas de *Arachis pintoi* propagadas vegetativamente

As cultivares e o acesso testado apresentaram diferenças na formação de raízes adventícias, a partir das partes inferior (CV=65%), médio (CV=52%) e superior (CV=56%) dos estolões, no que se refere ao seu comprimento e peso da massa seca da raiz nas diferentes concentrações de alumínio testadas.

Observa-se pela Figura 23 que as diferentes concentrações de alumínio (20 μM , 40 μM , 80 μM , 160 μM e 320 μM) não mostraram diferenças significativas nos parâmetros estudados em relação às cultivares e acesso, na parte inferior dos estolões. Porém a aplicação de alumínio nas diversas concentrações, provocou uma redução no comprimento das raízes adventícias. Esta redução apresentada na parte inferior pode estar relacionada com a entrada do alumínio, morte da célula e conseqüente inibição do crescimento da raiz, conforme foi observado em plantas propagadas por sementes por Tamás et al, (2006) no cultivo de cevada. Em *Arachis hypogaea*, Brady et al (1993), verificaram em plantas propagadas por sementes, uma severa redução no comprimento das raízes na concentração de 10 μM .

Embora tenham sido observadas variações entre as cultivares, elas não foram significativas provavelmente em função do alto coeficiente de variação observado, por se tratar de material vegetativo.

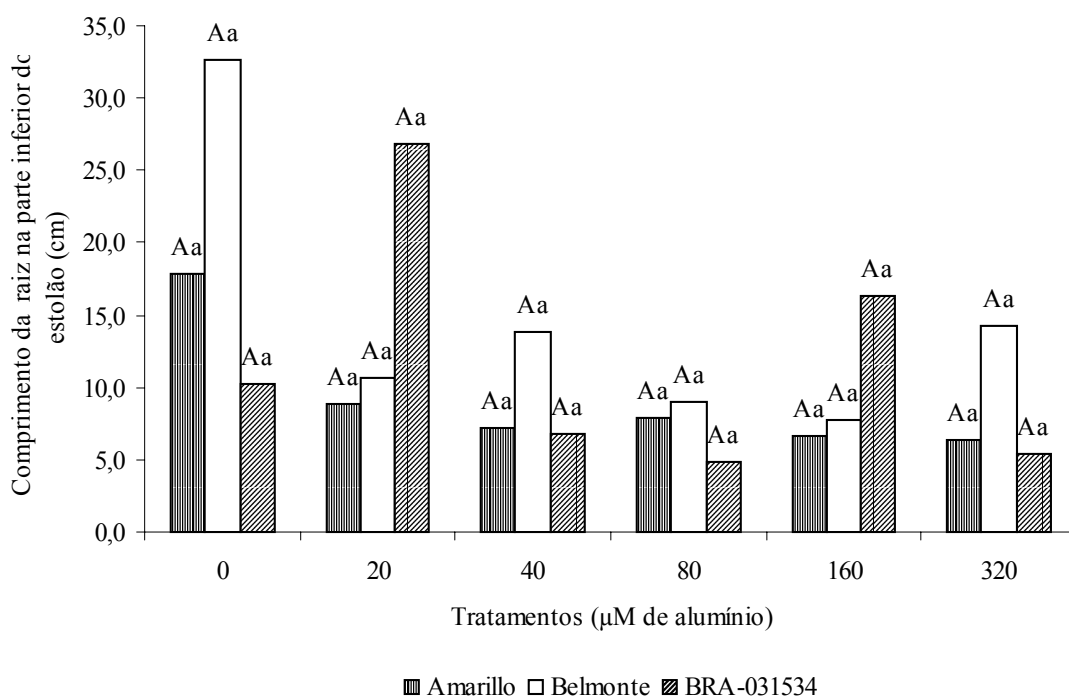


Figura 23 Comprimento da raiz adventícia emitida na parte inferior do estolão do *Arachis pintoi* submetidas a diferentes concentrações de alumínio durante 30 dias. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas cultivares/aceso e letra minúscula nos tratamentos com alumínio, não diferem pelo teste de Tukey a 5%. CV=65%.

Na Figura 24 pode-se verificar que na parte média do estolão da cultivar Amarillo, o aumento da concentração do alumínio, provocou redução do comprimento radicular, comportamento este exibido por esta cultivar na parte inferior do estolão (Figura 23). A cultivar Belmonte porém mostrou uma tendência para um aumento do comprimento da raiz adventícia até a concentração de 80µM, onde apresentou um comprimento estatisticamente superior ao acesso BRA-031534, e posterior redução nas concentrações de 160µM e 320µM, o que provavelmente nestas concentrações pode estar associado com início do efeito da fitotoxicidade, o que possivelmente poderá se intensificar com o aumento da concentração e período de exposição ao alumínio. O acesso BRA-031534 apresentou na parte média do estolão, um maior desenvolvimento promovido pela testemunha sem alumínio com conseqüente redução no comprimento das raízes adventícias, conforme aumento da concentração de alumínio. Macedo et al (2001) observaram que a extensão da inibição depende da cultivar e da concentração de alumínio.

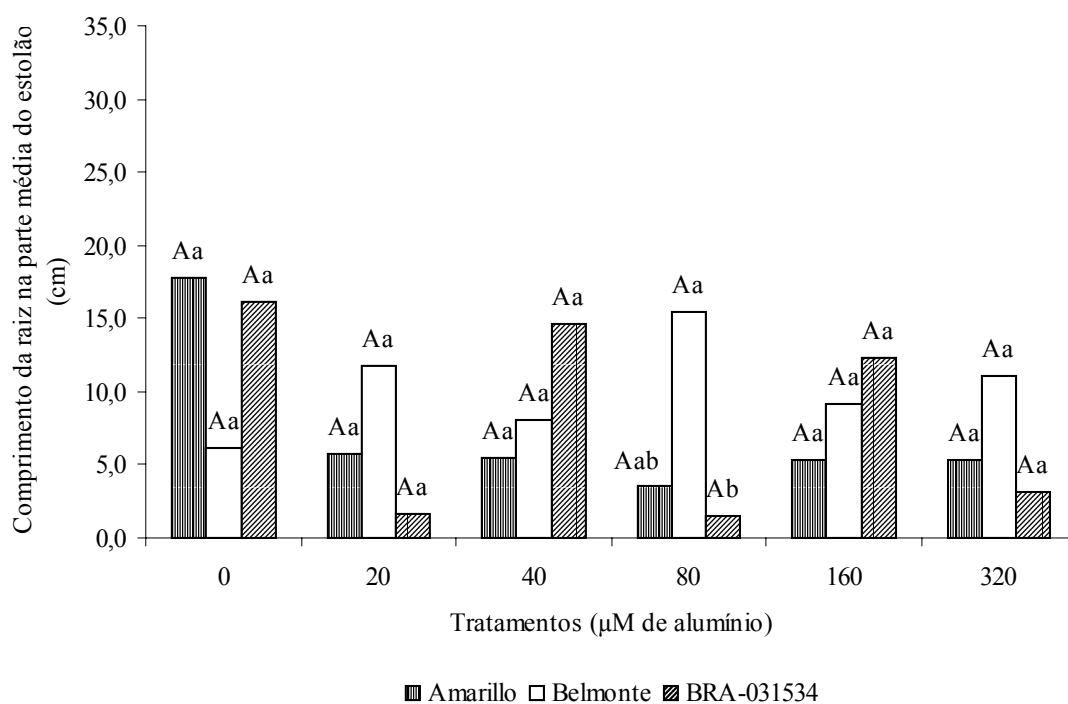


Figura 24 Comprimento da raiz adventícia emitida na parte média do estolão do *Arachis pintoii* submetidas a diferentes concentrações de alumínio durante 30 dias. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas cultivares/aceso e letra minúscula nos tratamentos com alumínio não diferem pelo teste de Tukey a 5%. CV=52%.

A cultivar Amarillo do mesmo modo que nas partes inferior e média, na parte superior (Figura 25), mostrou uma redução conforme o aumento da concentração de alumínio. Delhaize & Ryan (1995) afirmam ser a inibição do sistema radicular o sintoma mais facilmente reconhecido, e conforme Caetano et al (2002) a avaliação da raiz é mais eficiente que a parte aérea. A cultivar Belmonte do mesmo modo que na parte média do estolão, apresentou um crescimento radicular até a concentração de 80µM tendo nesta concentração crescimento radicular superior estatisticamente à testemunha, nesta concentração observa-se que a cultivar Belmonte apresenta um aumento na raiz adventícia estatisticamente superior em relação a cultivar Amarillo e ao acesso BRA-031534. A partir da concentração de 160µM o comprimento da raiz adventícia da cultivar Belmonte decresce conforme aumenta a concentração de alumínio, Marziah et al (1995) observaram que a concentração de 30µM provocou uma redução significativa na elongação da raiz de *Arachis hypogaea*. O acesso BRA-031534 não apresenta diferenças significativas entre os vários tratamentos porém observou-se uma redução no comprimento radicular até a concentração de 80µM e a partir desta concentração ocorreu um crescimento, com redução na concentração de 320µM onde ocorre novamente inibição ao crescimento, Parker (1995) observou comportamento semelhante em raiz de trigo que após uma redução inicial no comprimento mostraram recuperação no crescimento. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas, a cultivar Belmonte foi a que apresentou maiores comprimentos de raiz na concentração mais alta de alumínio (Figuras 23, 24 e 25). Com relação ao número de raízes adventícias formadas observou-se nas cultivares e acesso estudados, que na concentração mais elevada (320µM) a

maior produção de raízes ocorreu na parte inferior do estolão, e nas diversas concentrações estudadas o maior número de raízes adventícias foi formado na parte superior (cultivar Amarillo) e na parte inferior do estolão (cultivar Belmonte e acesso BRA-031534).

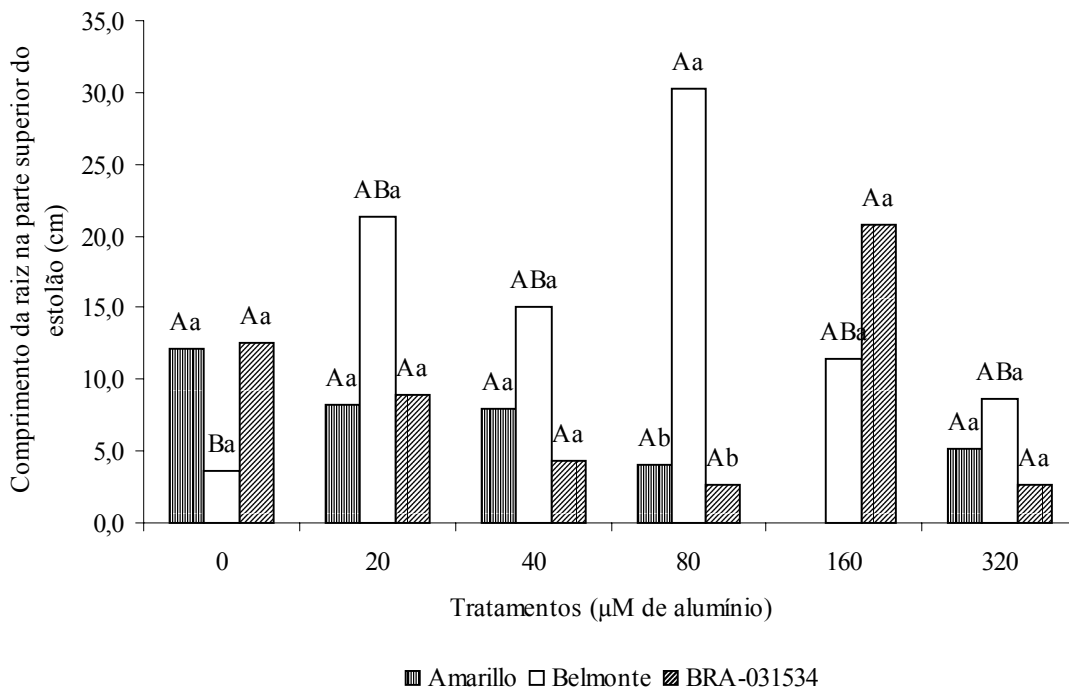


Figura 25 Comprimento da raiz adventícia emitida na parte superior do estolão do *Arachis pinto* submetidas a diferentes concentrações de alumínio durante 30 dias. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas cultivares/acesso e letra minúscula nos tratamentos com alumínio não diferem pelo teste de Tukey a 5%. CV=56%.

Verificou-se que em relação ao peso da massa seca da raiz (Figura 26) não ocorreram diferenças significativas (CV=101%) entre os diversos tratamentos testados; as cultivares Amarillo e Belmonte apresentaram uma redução do peso da massa seca conforme aumento na concentração do alumínio. Curti Junior (2001) observou também redução na massa seca da raiz de *Ingá marginata*. Neste parâmetro, o acesso BRA-031534 tem uma redução no acúmulo de massa seca na concentração de 40μM, aumentando o seu peso a partir desta concentração com valores superiores à testemunha.

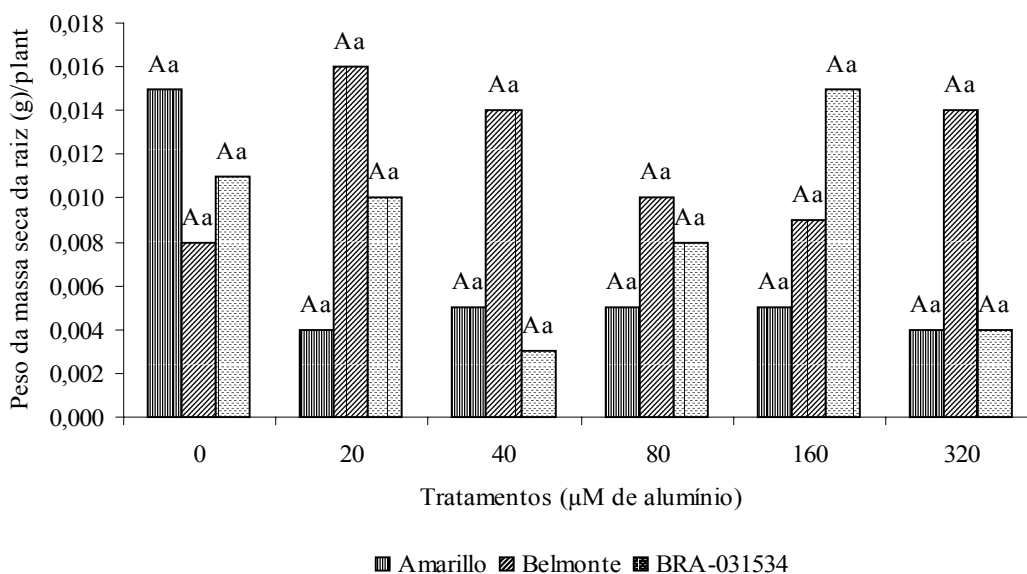


Figura 26 Peso da massa seca da raiz adventícia emitida pelo estolão do *Arachis pintoi* submetidas a diferentes concentrações de alumínio durante 30 dias. As médias seguidas pela mesma letra maiúsculas nas cultivares/acesso e letra minúscula nos tratamentos com alumínio não diferem pelo teste de Tukey a 5%. CV=101,33%.

Ao se considerar o comprimento da raiz formada no estolão como um todo (CV=87%), se observa pela Figura 27 que a cultivar Belmonte foi superior porem sem diferir estatisticamente do acesso BRA-031534 e foi estatisticamente superior a cultivar Amarillo, o que caracteriza a rusticidade desta cultivar em solos com níveis de alumínio mais elevados e com isto permitindo a sua capacidade de consórcio com gramíneas de elevada competitividade.

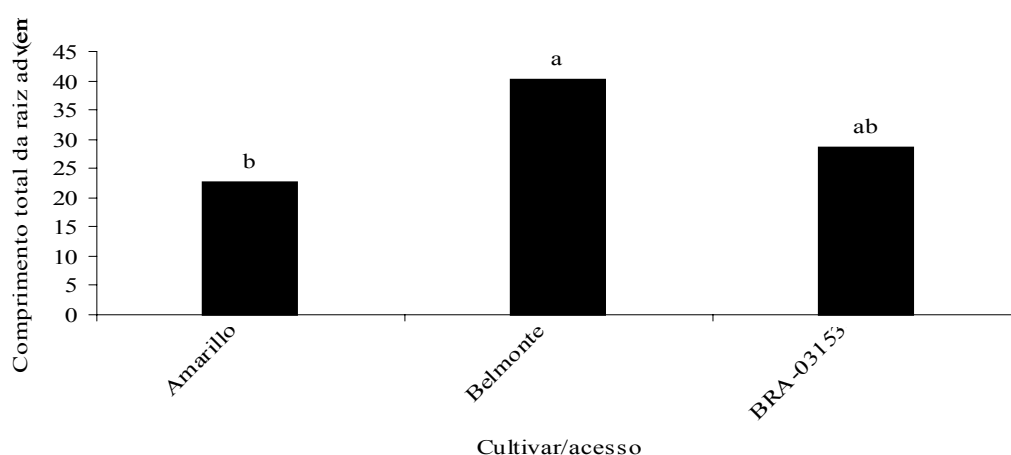


Figura 27 Comprimento total da raiz adventícia do *Arachis pintoi* cultivares Amarillo, Belmonte e acesso BRA-031534. As médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. CV=87%.



Figura 28 Esquema de divisão dos estolões em partes inferior, média e superior, para determinação do comprimento das raízes adventícias.

3.6 CONCLUSÕES

O crescimento radicular do *Arachis pintoii* indica uma sensibilidade desta leguminosa ao alumínio. Nos experimentos em solução simples com a cultivar Amarillo, observou-se uma tendência de redução significativa no comprimento da raiz primária. O estudo do comprimento relativo da raiz mostrou que na concentração de 16 μ M de alumínio, ocorreu uma redução em termos percentuais de 27% em relação ao tratamento controle. O peso da massa seca da raiz também foi influenciada negativamente pelos tratamentos com 80 μ M e 160 μ M de alumínio.

O alumínio induziu o aparecimento de sintomas de toxicidade, como o escurecimento da ponta da raiz e aumento de mucilagem na raiz primária.

O corante violeta pirocatecol serviu como parâmetro para discriminar as diferentes concentrações de alumínio utilizadas neste estudo.

A utilização de solução completa com a cultivar Amarillo e acesso BRA-031534 Observou-se uma tendência para redução no crescimento da raiz primária do *Arachis pintoii*. Quando foi utilizada a solução completa com a cultivar Amarillo e acesso BRA-031534 A eficiência radicular relativa demonstrou para a cultivar Amarillo, uma redução de 51% da maior concentração estudada (320 μ M) em relação à testemunha. No acesso BRA-031534 na concentração de 160 μ M de alumínio, foi observada uma redução de 49% do comprimento da raiz.

O estudo da cultivar Amarillo observou-se ainda, que as plantas apresentaram as extremidades da raiz escurecidas nos tratamentos de 160 μ M e 320 μ M de alumínio, as raízes primárias e secundárias tinham pontas escurecidas, e o número de raízes secundárias aumentou a partir da concentração de 80 μ M de alumínio. O corante violeta de pirocatecol permitiu visualizar através de diferença de coloração, os efeitos tóxicos do alumínio ao nível de 320 μ M no acesso BRA-031534..

Quando as plantas foram propagadas de forma vegetativa, a cultivar Belmonte apresentou uma tendência para formação de raízes adventícias superior à cultivar Amarillo e ao acesso BRA-031534. A cultivar Belmonte demonstrou menor sensibilidade ao alumínio e com isto torna-se mais viável para cultivo em solos com toxidez provocada pelo alumínio.

Na concentração de 320 μ M, a maior produção de raízes adventícias ocorreu na parte inferior dos estolões, e nas demais concentrações para a cultivar Amarillo na parte superior e para a cultivar Belmonte e acesso BRA-031534 na parte inferior do estolão.

4 CAPÍTULO III.

**RESPOSTA DE *Arachis pinto* cv. AMARILLO
À APLICAÇÃO DE MOLIBDÊNIO**

4.1 RESUMO

O molibdênio desempenha função importante em relação às leguminosas por ser componente das enzimas do metabolismo de nitrogênio, ou seja, atua na redução do nitrato e na fixação biológica de nitrogênio atmosférico através das molibdoenzimas, redutase do nitrato ou nitrogenase respectivamente.

Este trabalho foi realizado em solo do tipo Argisolo Vermelho Amarelo, da camada do solo, horizonte B com pH 4,5, para verificar os efeitos de quatro níveis de molibdênio ($0\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$, $50\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$, $100\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ e $200\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$) em três diferentes níveis de pH (4,5; 5,0 e 6,0), e duas diferentes épocas de coleta (49 e 78 dias). Foram avaliados os seguintes parâmetros: comprimento da raiz principal, peso da matéria seca da raiz, parte aérea e nódulos, comprimento da parte aérea e número de nódulos. As respostas aos diferentes tratamentos variaram com os cultivares/acesso estabelecidos. O pH afetou a nodulação na primeira e na segunda coleta, com o peso do nódulo maior nos níveis de pH 5,0 e 6,0. Em relação aos níveis de molibdênio, na primeira coleta, não interferiu na resposta dentro de cada nível de pH, no entanto na segunda coleta o maior número de nódulos foi obtido com a aplicação de $300\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ molibdênio no nível de pH 6,0.

Palavras Chave: *Arachis pintoi*, nodulação, molibdênio.

4.2 ABSTRACT

Molybdenum has an important function in relation to leguminous plants. It is a component of enzymes from the nitrogen metabolism. Molybdenum acts in the process of nitrate reduction and also in biological the nitrogen fixation through molibdoenzimas, nitrate reductase and nitrogenase, respectively.

Studies were conducted in ultisol type of soil (B horizon soil layer) with pH 4,5 with the objective to verify the effects of four molybdenum levels ($0\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$, $50\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$, $100\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ e $200\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$) related to three different pH levels (4,5; 5,0 e 6,0), at two different times of harvest (49 and 78 days). The following parameters were evaluated: length of the main root, dry weight of nodules, root and shoot and number of nodules. The response to this study varied with the treatments and cultivar/access tested. Nodulation, nodule weight in the first harvest and in the second harvest were higher at 5,0 and 6,0 pH levels.

Key words: *Arachis pinto*, nodulation, molybdenum.

4.3 INTRODUÇÃO

O molibdênio é um metal de transição, classificado como micronutriente essencial que teve a sua essencialidade demonstrada por Arnon & Stout (1939), caracterizando-se por ser absorvido em pequena quantidade sob a forma de MoO_4^{2-} , e por não participar da estrutura da planta, mas da constituição de enzimas (redutase do nitrato) ou ativador de sistemas enzimáticos. As plantas requerem pequenas quantidades, em geral de $40\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ a $50\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ para suprir a necessidade da maioria das culturas, e sua deficiência repercute na atividade respiratória. A maior ou menor disponibilidade de molibdênio está determinada pelo pH do solo e a redução do pH do solo pode diminuir esta disponibilidade (Dechen & Nachtigall, 2006), com sua deficiência ocorrendo em solos ácidos de textura mais leve (Raij, 1991). A redução do pH do solo ou acúmulo de matéria orgânica e a elevação do dióxido de carbono atmosférico podem reduzir a disponibilidade de molibdênio, causando um declínio na fixação biológica de nitrogênio (Hungate et al, 2004). Hungria & Vargas (2000) observaram que a fixação de nitrogênio pode ser limitada pela acidez do solo em cultivares comerciais de feijão e soja. Os rizóbios recomendados como inoculantes comerciais toleram níveis moderados de acidez, a nodulação é drasticamente reduzida em pH 4,5 e uma boa nodulação e fixação de nitrogênio podem ser obtidas com pH acima de 5,2 no qual se pode assegurar a disponibilidade de molibdênio (Hungria & Vargas, 2000).

O molibdênio atua em mais de trinta enzimas com a finalidade de catalisar as reações de redução; entretanto somente três enzimas com molibdênio têm sido descritas em plantas: a redutase do nitrato que catalisa importantes passos na assimilação de nitrogênio inorgânico, a aldeído oxidase que recentemente tem sido mostrado como catalisador no último passo na biossíntese dos fitohormônios, ácido indolacético e ácido abscísico e a xantina desidrogenase que está envolvida no catabolismo da purina (Mendel & Schwarz, 1999).

Existem quatro formas de molibdênio no solo que são:

- a. Molibdênio não disponível localizado na rede cristalina de minerais primários e secundários;
- b. Molibdênio trocável retido pelos minerais de argila;
- c. Molibdênio presente na matéria orgânica;
- d. Molibdênio solúvel em água (Malavolta, 1967).

É também considerado como o micronutriente mais importante para a fixação biológica do nitrogênio, porém se apresenta em baixa disponibilidade em solos brasileiros e a sua adubação apresenta três dificuldades principais:

- a) Pequena quantidade de adubo a ser distribuída de maneira uniforme no solo.
- b) Imobilização em solos ácidos ricos em ferro e alumínio.
- c) Incompatibilidade que algumas formas contendo molibdênio apresentam com a inoculação com *Rhizobium*. (Jacob Neto & Franco, 1986, Gupta & Lipsett, 1981, Chalt et al 1969).

De acordo com Lantmann, (2002), a principal atuação do molibdênio está no processo de fixação simbiótica do nitrogênio pelas bactérias em associação com as plantas superiores. A falta de molibdênio no solo ocasiona menor síntese da enzima nitrogenase, e como consequência uma redução na fixação biológica de nitrogênio. Por ser um elemento estrutural das enzimas (Urquiaga et al, 1996), ele é essencial na síntese da redutase do nitrato bem como na síntese e atividade da nitrogenase e a baixa disponibilidade deste nutriente pode afetar estes processos.

Respostas diferenciadas em termos de nodulação foram observadas por diferentes autores: até o início da década de 80, pesquisadores acreditavam que *Azotobacter vinelandii* e outros microrganismos fixadores de nitrogênio continham uma única nitrogenase, a nitrogenase dependente de molibdênio. Esta nitrogenase, ou nitrogenase clássica como é mais

conhecida atualmente, é um complexo enzimático composto de duas metalo-proteínas, designadas Fe-proteína e MoFe-proteína, ambas requeridas para a catálise.

Estudos estabeleceram que sistemas alternativos da nitrogenase, eram independentes geneticamente, sendo eles: nitrogenase 1 (clássica ou dependente de molibdênio – codificada por genes *nif*), nitrogenase 2 (dependente de Vanádio (V) – codificada por genes *vnf*) e nitrogenase 3 (alternativa ou apenas dependente de Ferro (Fe) – codificada por genes *anf*). A nitrogenase 1, descrita anteriormente, só é expressa em meio contendo molibdênio e é a que se encontra presente em todos os microorganismos diazotróficos estudados até o momento. A nitrogenase 2 ou dependente de V é um complexo enzimático contendo V na composição do cofator. Este cofator só é sintetizado quando V está presente em meio livre de nitrogênio e na ausência de molibdênio. A nitrogenase 3 não contém nem molibdênio nem V e é induzida apenas na presença de ferro, sob condições de deficiência de molibdênio e V. Estirpes com deleções nos genes estruturais (*nifHDK*) facilitaram o isolamento das nitrogenases 1, 2 e 3 de *A. vinelandii* e da nitrogenase 2 de *A. chroococcum*. Desde então, a existência de nitrogenases alternativas deixou de ser um dogma e já foram identificadas em diversos grupos de microorganismos diazotróficos, tais como: *Anabaena variabilis*, *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodobacter capsulatus*, *Methanosarcina barkeri* e *Clostridium pasteurianum* (Teixeira et al, 1998).

Caíres & Rosolem (1999) observaram que em condições de elevada acidez do solo, a aplicação de molibdênio proporcionou um aumento de clorofila nas folhas decorrente em grande parte ao aumento do teor de nitrogênio certamente ocasionado por maior atividade da nitrogenase, com efeito semelhante ao da calagem. Este fato também foi observado por Vieira et al (1998a) na cultura do feijão, onde a aplicação foliar de molibdênio em solos de baixa fertilidade aumentou a atividade da nitrogenase e reduziu o nitrato, com conseqüente aumento no nitrogênio total acumulado no caule e aumento da eficiência do rizóbio. Eles concluíram que em alguns tipos de solo a fertilização nitrogenada pode ser substituída pela aplicação foliar de uma pequena quantidade de molibdênio. Para Hafner et al (1992) a aplicação de molibdênio na dosagem de $100\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$, foi suficiente para aumentar a atividade da nitrogenase. Rao & Kerridge (1993) relatam que o *Arachis pintoi* apresenta uma baixa exigência nutricional para o molibdênio e Quaggio et al (2004) observaram em *Arachis hypogaea* que o molibdênio proporcionou aumento da concentração de nitrogênio nas folhas e conseqüente provocando com isto aumento na produtividade do amendoim nos tratamentos com doses de calcário mais baixas.

A adição de molibdênio em solos cultivados por mais de oito anos com soja, provocou um aumento na fixação biológica de nitrogênio e na produtividade da soja, não afetando porém a nodulação (Campo & Lantmann 1998). Em *Arachis hypogaea* o molibdênio aumentou a matéria seca de nódulos mas não interferiu de forma significativa no número de nódulos, e sua aplicação não influenciou a absorção de nitrogênio; o número de nódulos foi mais adequado que o peso da massa seca do nódulo para avaliação do amendoim, destacando-se a dificuldade existente para este tipo de estimativa na cultura do amendoim, devido a grande quantidade de nódulos com pequeno diâmetro (Caíres & Rosolem, 2000).

O estudo de fixação biológica de nitrogênio em feijão e soja tem demonstrado que é possível aumentar a produtividade destas culturas aumentando a eficiência do processo simbiótico de fixação do nitrogênio (Vargas & Suhet, 1980; Jacob Neto, 1985). O uso intensivo do solo, com cultivos sucessivos de soja, tem provocado uma retirada crescente de molibdênio do solo, sem haver em muitos casos, a reposição adequada. Com o passar dos anos, mesmo solos com pH alto, podem apresentar deficiência de molibdênio, como foi observado para feijão por Jacob Neto et al (1995) e níveis elevados de calcário (4 a 6 t/ha) podem causar redução no peso seco dos nódulos sem influenciar o peso seco da parte aérea (Samarão et al, 1986).

As estirpes de *Bradyrhizobium* sp. respondem de forma variada a diferentes fontes de molibdênio. O contato entre o inoculante e o molibdênio provocou uma redução no número de células, na nodulação e conseqüentemente na fixação biológica de nitrogênio (Albino & Campo, 2001). Esses autores sugerem que a aplicação de molibdênio nas sementes com o inoculante, deve ser evitada.

As fontes de molibdênio mais eficientes para a fixação biológica de nitrogênio são molibdato de amônia, trióxido de molibdênio e as fontes comerciais grap e comol.

No cultivo de soja a aplicação nas sementes de molibdênio na dose de 48g.ha⁻¹ em solo que apresentava pH de 5,2 não alterou a nodulação e a eficiência do processo biológico de fixação de nitrogênio e a produtividade (Marcondes & Caires, 2005).

Em feijão, a aplicação foliar de molibdênio promoveu a redução no número de nódulos por planta, e um aumento no tamanho e peso do nódulo, considerando que uma alta fixação de nitrogênio e alta produção de grãos dependem do peso total dos nódulos e de sua longevidade com a prática da utilização do molibdênio, obtem-se nódulos maiores e mais ativos e evitando-se a sua senescência, provocando com isto uma fixação de nitrogênio efetiva por longo período de tempo e permitindo uma maior produção com dispensa da aplicação de nitrogênio (Vieira et al 1998b).

Em termos de produtividade, a elevação do nível de molibdênio promoveu aumentos crescentes na produtividade da cultura do arroz à medida que se elevou o nível de molibdênio (Sudim et al, 2002). Em soja, Campo & Hungria (2001), observaram que a aplicação de molibdênio via sementes, pulverização foliar ou sementes ricas em molibdênio não reduziu o peso seco de nódulos e aumentou o rendimento de grãos e teores de proteína nos grãos.

Em *Phaseolus vulgaris*, Polidoro et al (1998), verificaram que o teor de matéria seca da planta não foi afetada significativamente pela aplicação de molibdênio. De acordo com Jesús et al, (2006) a adição de molibdênio melhorou o conteúdo de nitrogênio na planta e acúmulo de molibdênio nas folhas, porém a biomassa não aumentou significativamente.

A realização de calagem superficial na cultura da soja, não disponibilizou o molibdênio em quantidades suficientes para o seu desenvolvimento, mas resultados positivos foram obtidos com a aplicação de molibdênio na dose de 30g.ha⁻¹ (Voss & Pottker, 2001). Em termos de produtividade, sementes tratadas com 48g.ha⁻¹ não produziu diferenças significativas (Gris et al, 2005). A fertilização foliar com molibdênio cultivada sob plantio direto não produziu resposta (Campos & Gnata, 2006).

Na cultura do feijão, a adubação com 40g.ha⁻¹ de molibdênio promoveu um aumento em altura em plantas de feijão, maior número de vagens e acréscimo na produtividade de 91% em relação à testemunha (Andrade et al, 2001). A aplicação foliar de 75g.ha⁻¹ de molibdênio causou um aumento no número de vagens número de grãos por vagens e o peso médio de cem grãos (Lima et al, 1999) O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) não foi afetado significativamente após a aplicação com molibdênio (Braga & Vieira, 1998). Pode ser adsorvido a matéria orgânica e a óxidos de ferro e alumínio (Reisenauer et al., 1962; Karimian & Cox, 1978) tornando-o não disponível para a planta.

Em plantas de feijão as maiores concentrações de molibdênio foram encontradas nos nódulos (Franco & Munns, 1981; Jacob Neto, 1985, Jacob Neto & Franco, 1989) e em soja (Ishizuka, 1982), quando crescidos em ambientes sem excesso de molibdênio disponível. O estabelecimento do nível crítico de molibdênio em nódulos de feijão foi realizado por Jacob Neto (1985) e Jacob Neto & Franco (1989). Dados obtidos por Jacob Neto (1998) sugerem que o nível crítico de molibdênio nos nódulos de soja situe-se na faixa de adubação de 50g.ha⁻¹ a 120g.ha⁻¹ de molibdênio quando as cultivares, Doko e Emgopa 301 foram crescidas em solo podzólico vermelho amarelo deficiente. Os resultados confirmaram as dificuldades de se trabalhar com molibdênio devido a sua pequena faixa de suficiência - deficiência.

Pelas dificuldades de se aplicar molibdênio nas condições de campo, tem-se buscado alternativas mais práticas para fornecer molibdênio às plantas, aumentando o conteúdo de molibdênio nas sementes (Meagher, 1952; Jacob Neto, 1985; Jacob Neto & Franco, 1986). A aplicação foliar de molibdênio em um hectare poderá produzir sementes molibdenizadas suficientes para o plantio de aproximadamente 50 hectares de soja e de cerca 30 hectares de feijão, dependendo da produtividade esperada da cultura. A aplicação além de ser barata, poderá ter seus custos reduzidos se for feita juntamente com um trato cultural qualquer da cultura, como a aplicação conjunta com inseticidas ou fungicidas, segundo Silva et al (2003) na cultura do feijão a aplicação conjunta de molibdênio e defensivos agrícolas não interfere na atuação do molibdênio.

Harris et al.(1965) verificaram que sementes de soja com 22,4 ppm de molibdênio foi suficiente para a sua progênie se desenvolver normalmente sem adubação complementar com molibdênio. Resultados de Jacob Neto & Franco (1988) e Jacob Neto & Franco (1995) sugeriram que as concentrações de molibdênio nas sementes para a planta se desenvolver sem adubação complementar deveria ser acima de 7,05 ppm.

Em 1997, Jacob Neto e colaboradores apresentaram resultados mostrando que sementes de soja com concentração acima de 3,5 $\mu\text{g Mo.semente}^{-1}$ já tinham molibdênio suficiente para a planta se desenvolver sem adubação complementar de molibdênio. Neste mesmo trabalho, os autores verificaram que o melhor estágio para aplicar molibdênio via foliar em soja, seria no período de enchimento de grãos, apesar de ter havido pequena diferença entre cultivares.

O processo de peletização tem sido usado na tentativa de adicionar outros micronutrientes junto com molibdênio, como cobalto, ferro, manganês e zinco. Entretanto o elemento que tem apresentado os resultados mais consistentes é o molibdênio. Trabalho recente publicado por Sfredo et al. (1997) atribui ao molibdênio o aumento de proteína nos grãos de soja. Neste trabalho os autores trabalharam com diferentes fontes de micronutrientes, mas atribuem ao molibdênio, os principais efeitos positivos na produção de soja.

Este experimento com *Arachis pinto* foi realizado com o objetivo de estudar a resposta de *Arachis pinto* cv. Amarillo ao molibdênio, em relação à biomassa e nodulação, visando otimizar a aplicação deste micronutriente tendo em vista a carência de estudos envolvendo o molibdênio e esta leguminosa.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de maio a agosto de 2006, em potes com capacidade para dois quilos, que receberam a inoculação com uma suspensão de células (2,0mL de meio de cultura semi-sólida por pote) de rizóbio da estirpe CIAT-5067 (BR-1418), com aproximadamente vinte sementes por pote e após a germinação procedeu-se o desbaste permanecendo uma planta por pote.

O solo utilizado foi do tipo Argissolo Vermelho Amarelo coletado no Colégio Agrícola Nilo Peçanha, localizado no município de Pinheiral-RJ, do horizonte B, estabelecida entre 20-40cm e com pH 4,5. com as características químicas e granulométrica determinadas no LABFER (Laboratório de análise de solo, planta e resíduos) da UFRRJ, com o seguinte resultado:

Tabela 1 Resultado da análise química do solo.

Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	N	pH	C org	P	K
						Cmol/dm ³					H ₂ O	%	mg/l	
											1:2,5			
0,016	1,4	1,6	0,05	3,8	5,0	3,06	6,86	45	72,836	0	4,5	0,53	1	19

m – saturação por alumínio; n – saturação por sódio; Cmol/dm³ = meq/100ml de TFSA; mg.kg⁻¹ = ppm

Tabela 2 Resultado da análise granulométrica do solo.

Argila (%)	Areia (%)	Areia Fina (%)	Areia Grossa (%)	Silte (%)
50	34	1	33	16

O delineamento experimental foi estabelecido em blocos ao acaso com 04 repetições, e com esquema fatorial utilizado-se os seguintes tratamentos, com molibdênio T₁: 0g.ha⁻¹; T₂: 50g.ha⁻¹; T₃: 100g.ha⁻¹; T₄: 200g.ha⁻¹, utilizado na forma de molibdato de amônio (NH₄)₆MoO₂₄.4H₂O, que mostrou ser uma boa fonte de molibdênio (Franco et al, 1980), realizada via solução, com 2mL por pote em três níveis de pH: pH₁: 4,5; pH₂: 5,0 e pH₃: 6,0 obtidos com a incorporação de calcário dolomítico marca Paraíso, produzido em Italva-RJ, com a seguinte composição: CaO – 30%, MgO – 12,10%.

Foram utilizadas duas épocas de colheitas sendo a primeira com quarenta e nove dias e a segunda com setenta e oito dias, e foram avaliados os seguintes parâmetros: comprimento da parte aérea; comprimento da raiz; peso da massa seca da raiz; peso da massa seca da parte aérea; diâmetro da raiz; número de nódulos; peso da massa seca dos nódulos.

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Departamento de Ciências Ambientais – IF, com temperatura média de 27°C e umidade relativa do ar média de 86%.

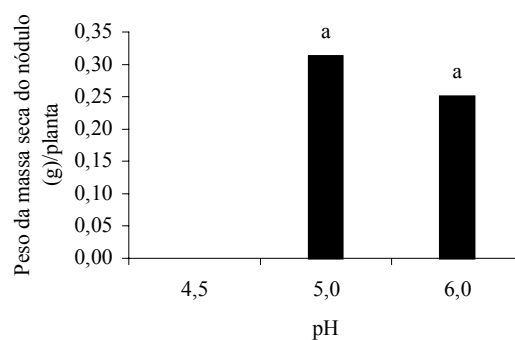
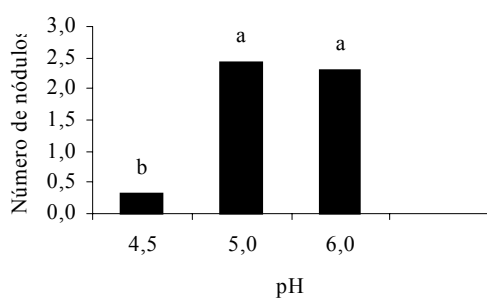
No procedimento estatístico, para se testar a normalidade da distribuição dos erros foi utilizado o teste de Lilliefors e a homogeneidade da variância dos erros foi verificada pelos testes de Cochran e Bartlett. Quando necessário utilizou-se a transformação $\sqrt{x + 1}$, para promover uma distribuição normal entre os erros. Para comparação de médias dos tratamentos, foi adotado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Gomes, 1990). As análises foram realizadas com uso do software SISVAR.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira colheita aos quarenta e nove dias, verificou-se que a nodulação foi influenciada significativamente com a variação do nível de pH, observando-se que no pH 4,5 Figura 1A as plantas apresentaram nodulação com valores inferiores ao número de nódulos obtidos nos níveis de pH 5,0 e pH 6,0. Estes dados apresentaram a mesma tendência aos obtidos por Hungria & Vargas (2000) que afirmaram ocorrer uma drástica redução na nodulação em pH 4,5. Associado a este fato deve-se considerar que neste nível de pH o alumínio também pode atuar como um fator de redução deste parâmetro. Shamsuddim et al (1992) afirmaram que este nutriente promove a diminuição do alongamento radicular e segundo (Machado, 1997) ele provocou o menor crescimento em pH 4,0 (Nolla et al, 2004). Estas afirmativas conduzem ao fato de que provavelmente a associação do alumínio em conjunto com o pH pode ter causado uma redução dos sítios de infecção das raízes, prejudicando o processo de nodulação no nível de pH 4,5. Nos tratamentos com molibdênio nas concentrações de 50g.ha⁻¹ e 200g.ha⁻¹ não foi observada nodulação, porém nos solos com os demais níveis de pH (5,0 e 6,0) a nodulação ocorreu em todos os tratamentos. No tratamento com 100g.ha⁻¹ (Figura 2) de molibdênio, foram observadas diferenças significativas em relação ao pH; a nodulação ocorrida neste tratamento ao nível de pH 5,0, foi significativamente superior aos outros nos níveis de pH 4,5 e pH 6,0. Ainda em relação à nodulação, (Figura 2) foram observadas diferenças significativas no nível de pH 5,0 na concentração de 100g.ha⁻¹ de molibdênio, diferindo significativamente da testemunha e da concentração de 200g.ha⁻¹. Dechen & Nachtigall (2006) relatam que a maior ou menor disponibilidade de molibdênio para as plantas foi determinado pelo pH do solo, indicando ser este um fator limitante.

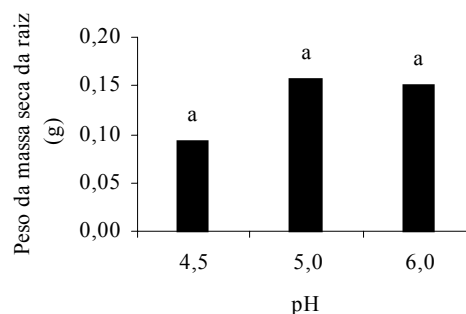
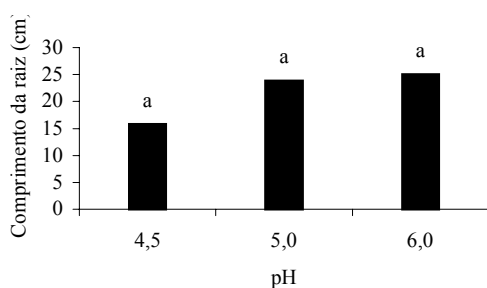
Para Hungria & Vargas (2000) uma boa nodulação e fixação de nitrogênio em soja são obtidas com pH 5,0 e neste pH se assegura a disponibilidade do molibdênio. Campo & Lantmann (1998) relataram a falta de resposta da nodulação à aplicação de molibdênio em condições de solo ácido de primeiro ano de cultivo com soja. Marcondes & Caires (2005) também encontraram que no pH 5,2 a aplicação de molibdênio na dose de 48g.ha⁻¹ não alterou a nodulação. Caíres & Rosolem (2000) observaram que o molibdênio não interferiu de forma significativa no número de nódulos. Albino & Campo (2001) relatam que a nodulação pode ser reduzida pelo contato entre o inoculante e o molibdênio. Segundo Vieira et al (1998b) a aplicação foliar do molibdênio causou redução no número de nódulos por planta.

Para o peso da massa seca dos nódulos (Figuras 1B e Figura 3) as diferenças entre as doses de molibdênio não mostraram variação significativa entre os diversos tratamentos, apresentando, um maior peso da massa seca de nódulos para o nível de pH 5,0 e 6,0. Caíres & Rosolem (2000) e Vieira et al (1998b) observaram aumento no peso seco dos nódulos com o uso de molibdênio. Adicionalmente, Caíres & Rosolem (2000) relata que para o amendoim *Arachis hypogaea* o número de nódulos foi o parâmetro mais adequado que o peso da massa seca do nódulo para se avaliar a nodulação do amendoim.



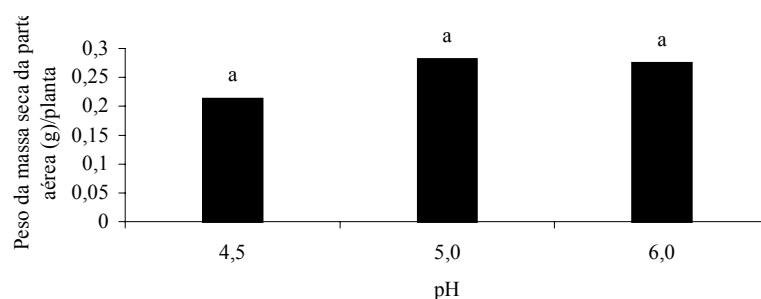
A - Número de nódulo.

B- Peso da massa seca de nódulo.



C – Comprimento da raiz.

D - Peso da massa seca da raiz.



E- Peso da massa seca da parte aérea.

Figura 1 Efeito do pH em plântulas da cultivar Amarillo na primeira coleta aos 49 dias após o plantio. As médias nos gráficos A, B, C, D e E seguidas pela mesma letra minúscula não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

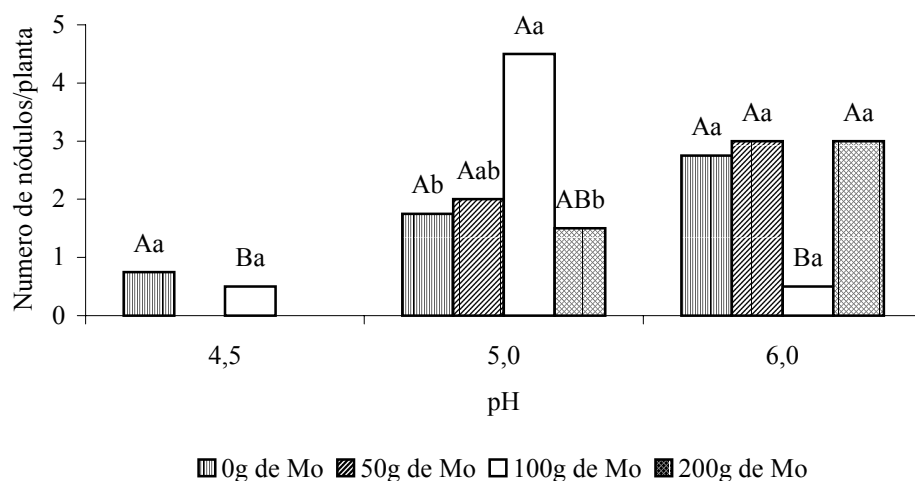


Figura 2 Número de nódulos da cultivar Amarillo na primeira coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=24%.

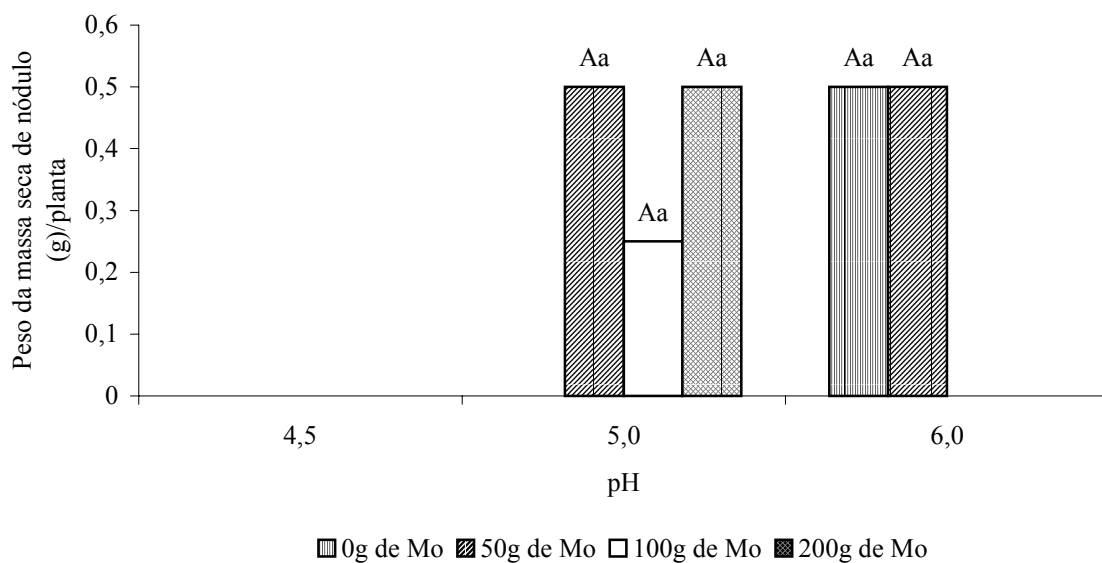


Figura 3 Peso da massa seca de nódulos da cultivar Amarillo na primeira coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%.

O comprimento da raiz principal conforme Figura 1C e Figura 4 não foi influenciado significativamente pelas concentrações de molibdênio e pelos níveis de pH. No pH 4,5 foi observado um menor desenvolvimento da raiz principal do que nos demais níveis e na concentração de 100g.ha⁻¹ de molibdênio (Figura 4) observou-se uma tendência para promoção de crescimento da raiz primária. Este fato é uma característica importante pois, conforme Zonta et al (2006) o crescimento radicular determina o potencial de absorção de água e nutrientes do solo, bem como vai ser o local da interação com os microorganismos do solo e conseqüentemente, determinar um maior número de pontos de infecção. A relação entre redução do comprimento da raiz, pH e alumínio foi observada por diferentes autores (Zonta et al 2006; Tamás et al 2006; Nolla 2004; Vicente et al 2004; Menoso et al 2001; Menosso et al 2000; Nascimento 1998; Delhaize & Ryan 1995; Ryan et al 1993; Brady et al 1993).

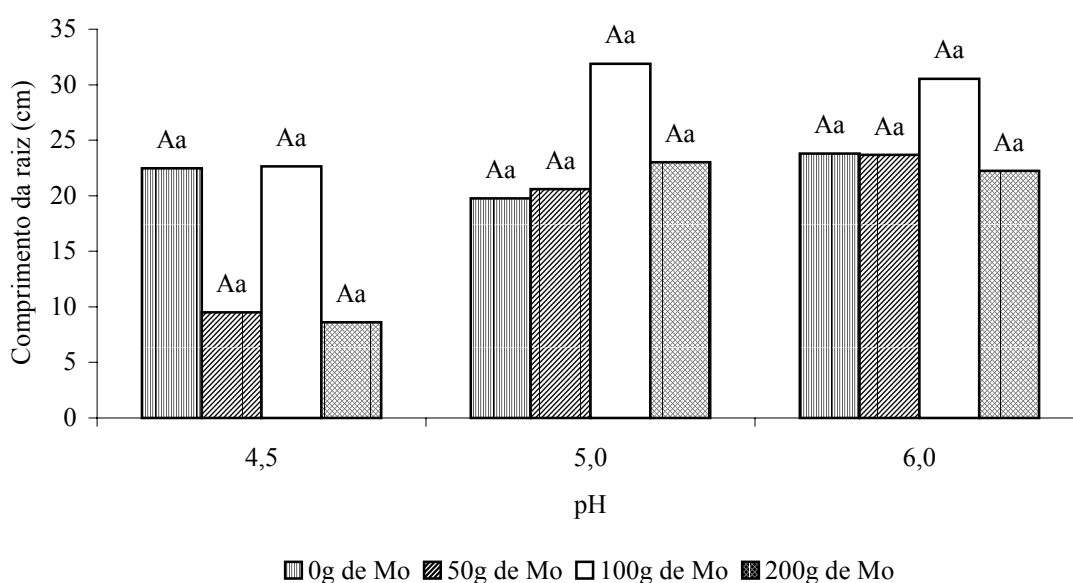


Figura 4 Comprimento da raiz principal da cultivar Amarillo na primeira coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=26%.

Na Figura 5 observa-se que na concentração de 100g.ha⁻¹ o tratamento com molibdato de amônia apresentou os melhores resultados nos diferentes níveis de pH, apesar de não ocorrer diferenças significativas entre os diversos tratamentos com molibdênio ou pH (Figura 1D). Jesús et al (2006) e Polidoro et al (1998) também observaram que a aplicação de molibdênio não afetou significativamente a produção de fitomassa.

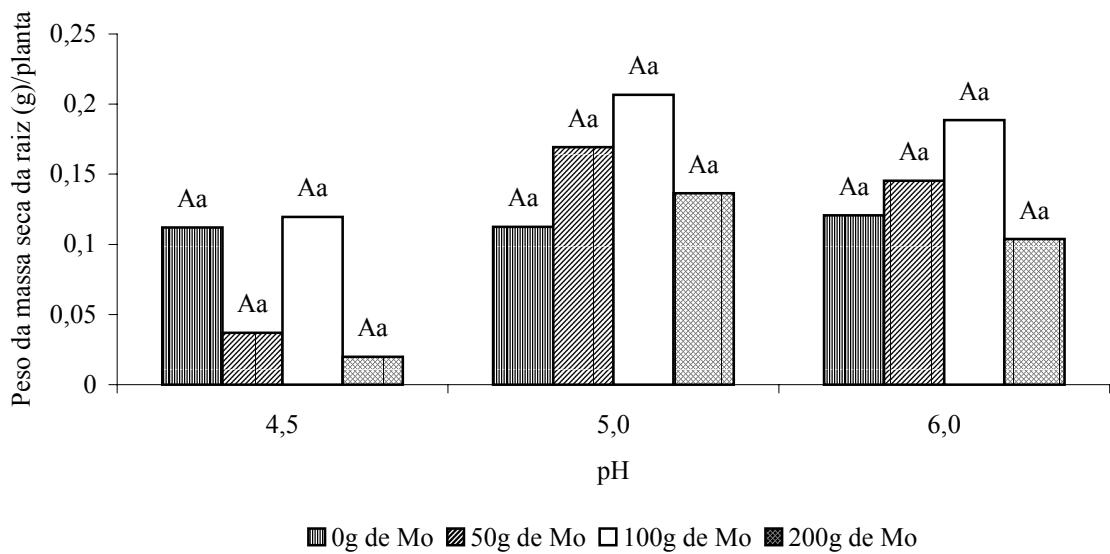


Figura 5 Peso da massa seca da raiz da cultivar Amarillo na primeira coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=4%.

Para o peso da massa seca da parte aérea, não foram detectadas diferenças significativas entre os níveis de pH estudados neste experimento. Foi observada uma tendência para um menor peso de massa seca no nível de pH 4,5 quando comparado ao pH 5,0 e pH 6,0 conforme Figura 1E. As diferentes concentrações de molibdênio aplicadas no solo com pH 4,5 promoveram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que na testemunha, a massa seca da parte aérea foi estatisticamente superior a obtida nas concentrações de 50g.ha⁻¹ e 200g.ha⁻¹.

Segundo Hungate et al (2004) e Lantman (2002) a redução do pH do solo pode causar um declínio na fixação biológica de nitrogênio. Nestes casos, o efeito da acidez pode ser minimizado pela aplicação de molibdênio. Caíres & Rosolem (1999) relatam que em elevadas condições de acidez do solo, a aplicação de molibdênio provocou uma melhoria da fixação biológica de nitrogênio com efeito semelhante ao da calagem. Vieira et al (1998a) também observaram aumento da atividade da nitrogenase e redutase do nitrato provocada pela aplicação de molibdênio (Figura 6).

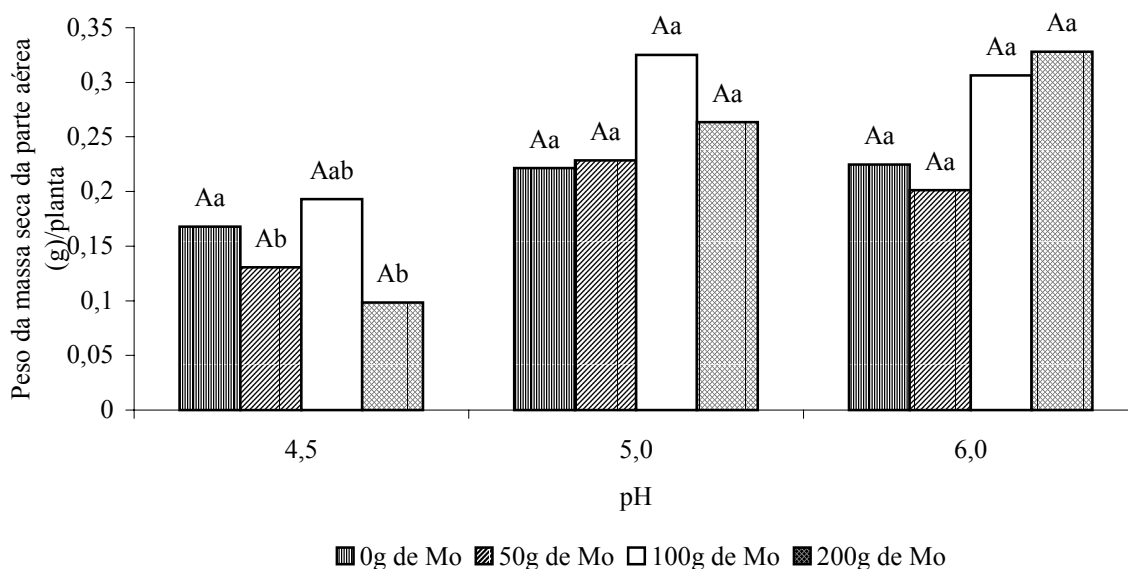
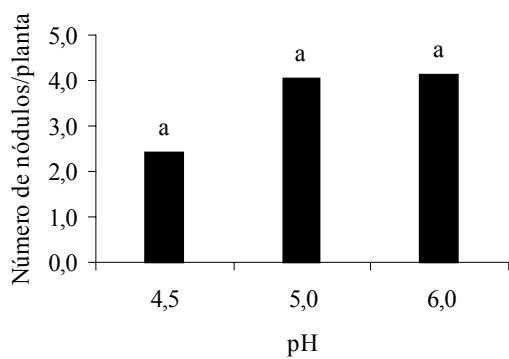


Figura 6 Peso da massa seca da parte aérea da cultivar Amarillo na primeira coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre os níveis de pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=6%.

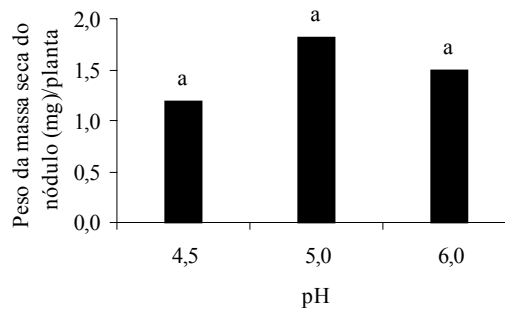
Na Figura 7A pode-se observar que o número de nódulos obtidos na segunda colheita, apresentou uma tendência ao aumento com o aumento de pH do solo. Resultados semelhantes a este foram observados na primeira colheita, mas diferentemente do ocorrido anteriormente (Figura 2), todos os tratamentos (Figura 8) a nodulação pode ter ocorrido mais tarde, não em função dos tratamentos, mas em função da característica fisiológica da planta. Contudo a nodulação foi considerada baixa.

A aplicação de molibdênio no pH do solo igual a 6,0, (Figura 8) provocou diferença significativa entre o tratamento 200g.ha⁻¹ e a testemunha, não havendo diferença significativa para os tratamentos com 50g.ha⁻¹ e 100g.ha⁻¹ de molibdênio. Do mesmo modo que na primeira colheita, foi observada uma tendência para maior nodulação no maior nível de pH.

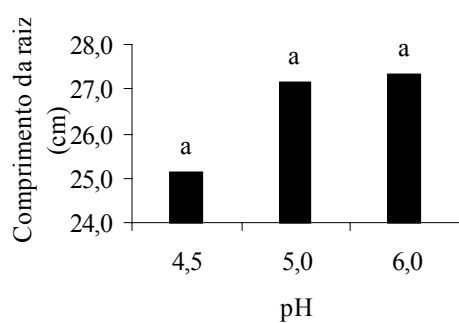
A análise conjunta dos dados relativos à primeira e segunda colheita mostram (Figura 14-A) que a nodulação promovida pelos tratamentos com molibdênio nas concentrações de 50g.ha⁻¹, 100g.ha⁻¹ e 200g.ha⁻¹ na segunda colheita foi significativamente superior ao tratamento testemunha de molibdênio e aos utilizados na primeira colheita, indicando um efeito positivo da aplicação de molibdênio devido ao provável efeito do molibdênio ao longo do tempo, diferentemente do resultado obtido por Campo & Lantmann (1998) e Caíres & Rosolem (2000) que não observaram alterações significativas no aumento do número de nódulos causado pelo molibdênio, a análise revela ainda que em relação aos níveis de pH não houve diferença significativa entre os tratamentos.



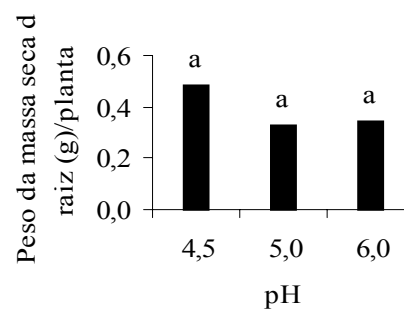
A - Número de nódulo.



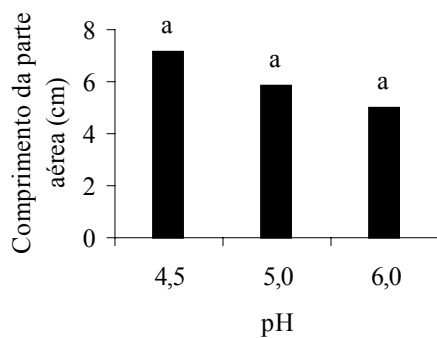
B- Peso da massa seca de nódulo.



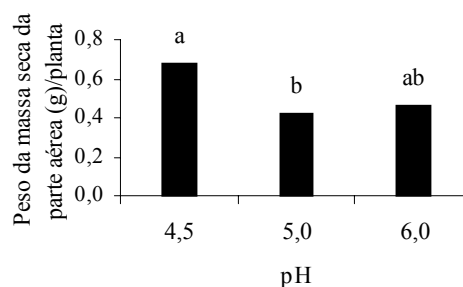
C – Comprimento da raiz.



D - Peso da massa seca da raiz.



E – Comprimento da parte aérea.



F- Peso da massa seca da parte aérea.

Figura 7 Efeito do pH em plântulas da cultivar Amarillo na segunda coleta, aos 78 dias após o plantio. As médias nos gráficos A, B, C, D, E e F seguidas pela mesma letra minúscula em cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

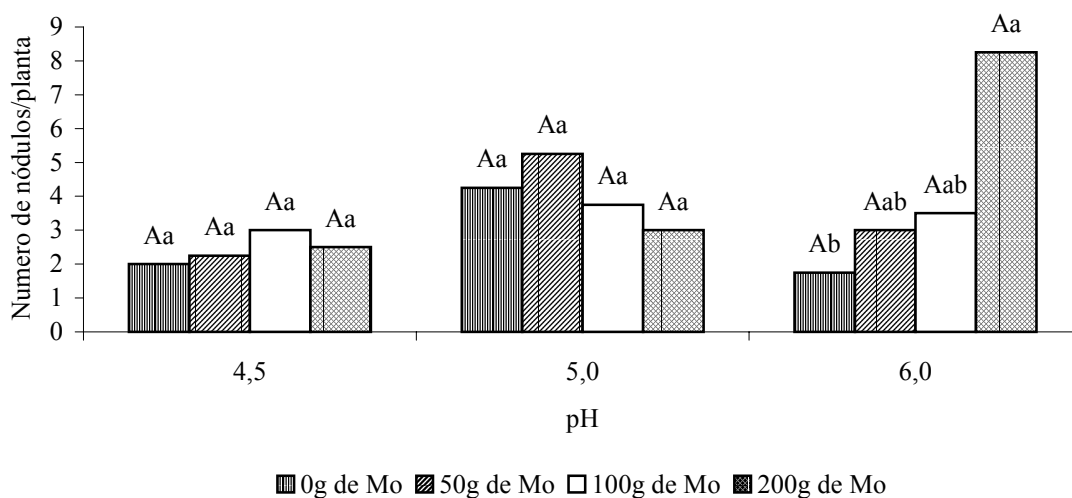


Figura 8 Número de nódulos da cultivar Amarillo na segunda coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=34%.

O peso da matéria seca do nódulo (Figura 7B) mostrou crescimento no nível de pH 5,0 de modo similar ao obtido na primeira colheita. O peso da massa seca (Figura 9) não apresentou diferenças significativas entre as concentrações de molibdênio aplicadas. De maneira semelhante à primeira colheita a dosagem de molibdênio influenciou o acúmulo de massa seca no pH 5,0 e pH 6,0. A análise estatística dos dados da primeira e segunda colheita não indicou diferenças significativas entre os tratamentos com molibdênio utilizados assim com para os diferentes níveis de pH.

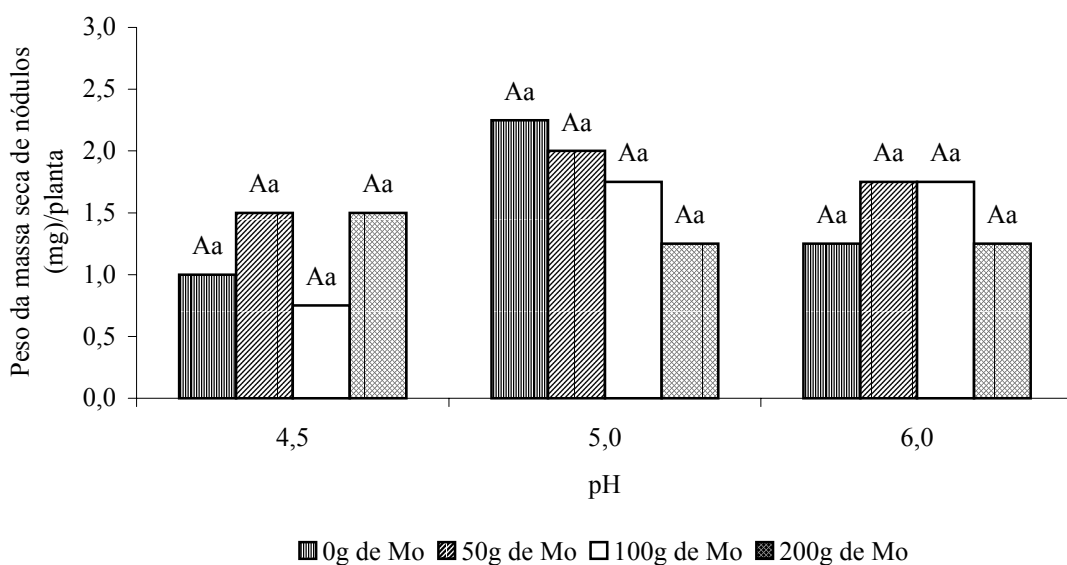


Figura 9 Peso da massa seca de nódulos da cultivar Amarillo na segunda coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV= 0,09%.

O comprimento da raiz principal nas diferentes doses de molibdênio e pH estudados não apresentou diferenças significativas (Figura 7C). Observando-se que as raízes aumentaram o seu comprimento conforme aumento do pH do solo e ao compararmos com a primeira colheita observamos o mesmo comportamento. A aplicação de 50g.ha⁻¹ de molibdênio promoveu a melhor resposta no comprimento da raiz principal no nível de pH 5,0. Deve-se ressaltar que a testemunha apresentou o comprimento da raiz principal no pH 5,0 e no pH 6,0 superior aos tratamentos com molibdênio, demonstrando uma boa resposta do *Arachis pintoi* mesmo em baixos níveis de pH para o seu estabelecimento no solo. As diferentes épocas de colheita quando analisadas conjuntamente demonstram diferenças significativas entre os dados referentes ao comprimento da raiz. Os tratamentos com molibdênio na segunda colheita produziram resultados significativamente superiores aos obtidos na primeira colheita, à exceção da concentração de 100g.ha⁻¹ que na primeira colheita teve resultados estatisticamente iguais aos obtidos na segunda colheita. Para os diferentes níveis de pH, não foram observadas diferenças estatísticas Figura 10.

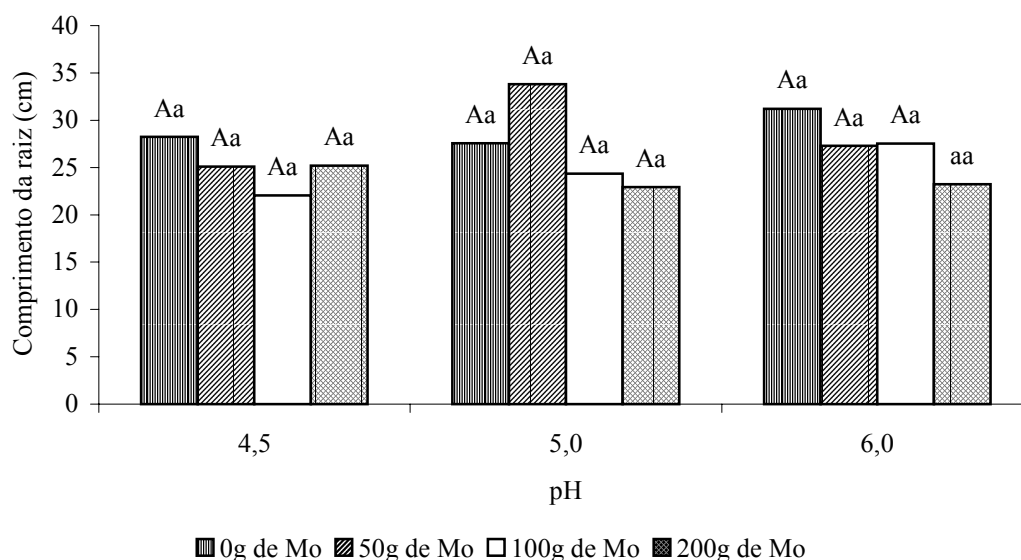


Figura 10 Comprimento da raiz principal da cultivar Amarillo na segunda coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=35%.

Diferentemente da primeira colheita para o peso da massa seca da raiz (Figura 7D) o pH 4,5 apresenta o maior acúmulo apesar de não diferir significativamente dos demais níveis de pH. Quanto aos tratamentos com molibdênio (Figura 11) observou-se que a testemunha promoveu maior acúmulo de matéria seca, sem apresentar diferenças significativas em relação às demais concentrações estudadas. Caíres & Rosolem (1999) verificaram em amendoim que em condições de elevada acidez, a aplicação de molibdênio provocou uma maior atividade da nitrogenase com efeito semelhante à calagem. Vieira et al (1998a) em feijão, também observaram que aplicação de molibdênio em solos de baixa fertilidade aumentou a atividade da nitrogenase e redutase do nitrato com conseqüente aumento na eficiência do rizóbio. Na análise conjunta dos dados, na segunda colheita a testemunha e as concentrações de 50g.ha⁻¹ e 100g.ha⁻¹ promoveram aumento no peso da massa seca da raiz significativamente superior aos

obtidos pelos diferentes tratamentos na primeira colheita. O tratamento testemunha foi significativamente superior à dosagem de 200g.ha⁻¹, assim como a todos os resultados obtidos na primeira colheita.

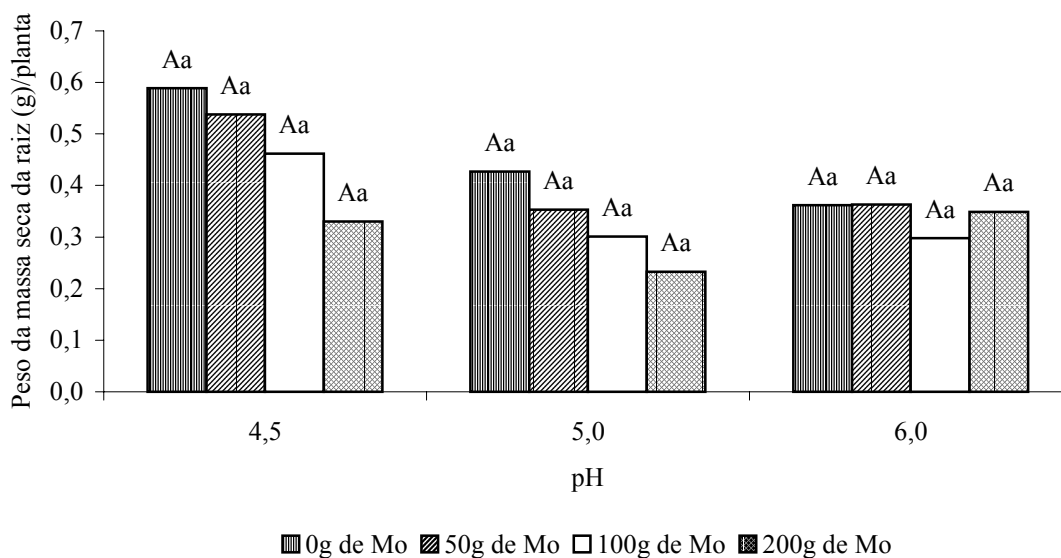


Figura 11 Peso da massa seca da raiz da cultivar Amarillo na segunda coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=48%.

No comprimento da parte aérea (Figura 7E) observou-se uma redução neste parâmetro conforme aumentou o valor do pH sem apresentar diferenças estatísticas. Na Figura 12 pode-se verificar que para o comprimento, no pH 6,0 nas dosagens de 50g.ha⁻¹ e 200g.ha⁻¹ de molibdênio, ocorreram as melhores respostas, sem apresentarem diferenças nas demais concentrações. A dosagem de 50g.ha⁻¹ de molibdênio em pH 4,5 foi estatisticamente superior ao comprimento obtido nesta concentração com pH 6,0, provavelmente devido aos parâmetros observados por Caíres & Rosolem (1999) e Vieira et al (1998a) onde a aplicação foliar de molibdênio em feijão em solos de baixa fertilidade, promoveu aumento da atividade da nitrogenase e redução do nitrato, com conseqüente aumento do nitrogênio no caule. O *Arachis pintoi* (Rao et al 1993) apresentou baixa exigência nutricional ao molibdênio este nutriente em *Arachis hypogaea* Quaggio et al, (2004) proporcionou mais nitrogênio nas folhas, o que aumentou a produtividade em doses de calcário mais baixas.

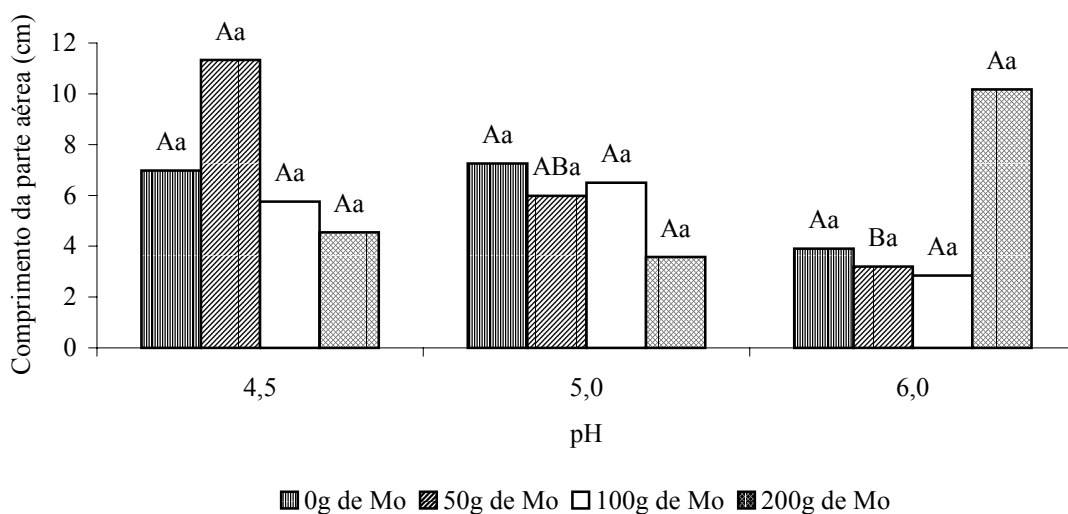


Figura 12 Comprimento da parte aérea da cultivar Amarillo na segunda coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pH pelo teste de Tukey a 5%. CV=68%.

Para o peso da massa seca da parte aérea, ocorreu uma variação entre os níveis de pH (Figura 7-F) com o pH 4,5 apresentando uma produção de massa seca da parte aérea significativamente maior que a obtida com pH 5,0, mas não diferindo estatisticamente do pH 6,0. As diferentes concentrações de molibdênio tiveram à exceção da concentração de 200g.ha⁻¹, um melhor desenvolvimento no pH 4,5 sendo a concentração 50g.ha⁻¹ foi significativamente superior à obtida no pH 6,0 (Figura 13). A análise conjunta dos dados demonstra que o peso da massa seca da parte aérea obtido na segunda colheita foi significativamente superior ao obtido pelas na primeira colheita. Os diferentes níveis de pH não diferiram estatisticamente entre si.

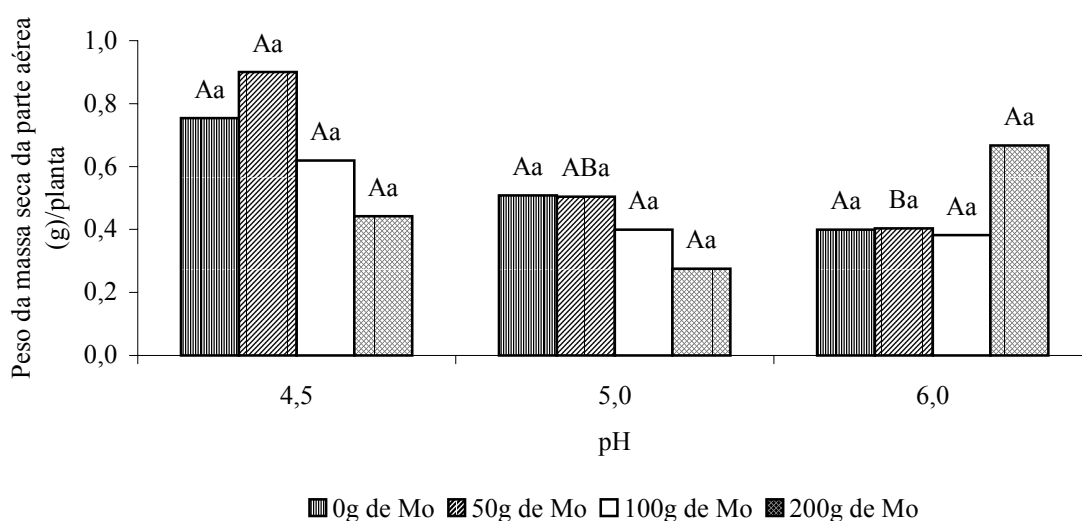
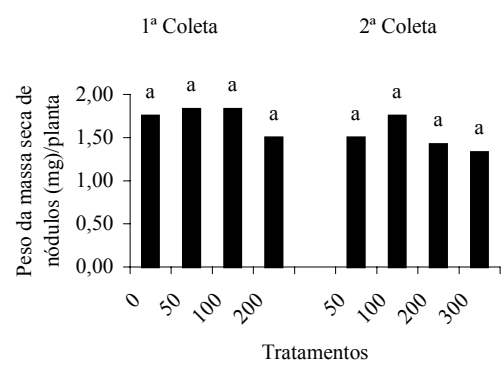
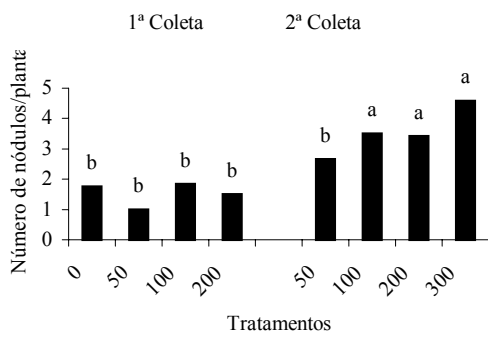
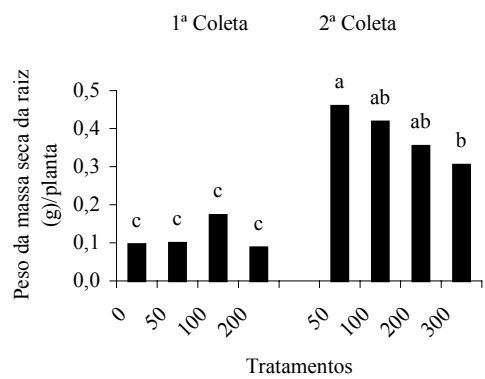
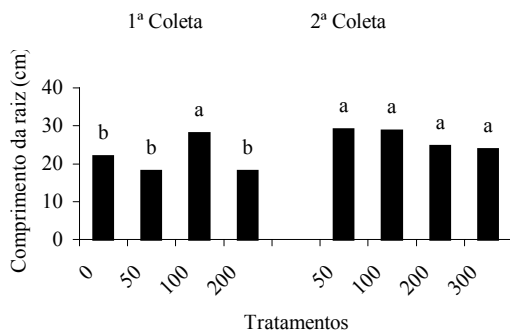


Figura 13 Peso da massa seca da parte aérea da cultivar Amarillo na segunda coleta. Valores seguidos da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre as doses e pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem para o pelo teste de Tukey a 5%. CV=47%.



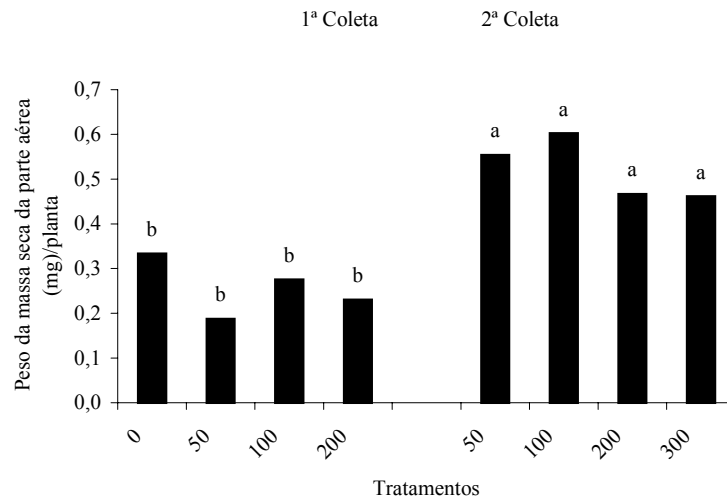
A- Número de nódulos

B- Peso da massa seca de nódulo



C- Comprimento da raiz

D- Peso da massa seca da raiz



E- Peso da massa seca da parte aérea

Figura 14 Efeito das diferentes concentrações de molibdênio em plântulas de *Arachis pintoi* cultivar Amarelo na primeira e segunda coleta. As médias nos gráficos A, B, C, D, E e F seguidas pela mesma letra minúscula em cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

4.6 CONCLUSÕES

Foi observado efeito do pH na nodulação na primeira e segunda colheita, com o pH 4,5 apresentando efeito deletério na nodulação.

Não foi observada resposta a aplicação de molibdênio dentro de cada nível de pH na primeira colheita em relação aos parâmetros analisados.

Na segunda colheita, foi observada resposta à aplicação de molibdênio no pH 6,0, sendo obtido um maior número de nódulos na concentração de $200\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$ de molibdênio.

Não foi observado efeito do molibdênio no acúmulo da massa seca da parte aérea.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos neste estudo em resposta à inoculação com as cultivares Amarillo, Belmonte e acesso BRA-031534 propagados vegetativamente, demonstram um comportamento diferenciado variando em função do inoculo e da cultivar/acesso estudados. A cultivar Belmonte mostrou uma resposta à inoculação superior a cultivar Amarillo e acesso BRA-031534. As estirpes CIAT utilizadas tiveram uma tendência a um comportamento equivalente às estirpes já recomendadas para *Arachis pintoi*. Observou-se a existência das estirpes nativas no solo compatíveis com *Arachis pintoi* apresentando uma boa resposta para as cultivares e acesso, e este fato sugere a realização de estudo em relação a estas estirpes. Em face dos resultados obtidos e considerando que nos locais de plantio, não seria garantida a presença de estirpes nativas de *Rhizobium* que sejam eficientes, recomenda-se que as estirpes utilizadas neste trabalho sejam utilizadas no processo de inoculação, para garantir a nodulação e obtenção de melhor desenvolvimento da cultura.

Com relação à influência do alumínio em plantas de *Arachis pintoi* propagado através de sementes ou estolão, observou-se uma tendência para inibição do crescimento da raiz na concentração de 320 μ M. Entre as cultivares avaliadas a Belmonte foi a que se mostrou mais tolerante aos efeitos negativos do alumínio, e portanto recomenda-se esta cultivar para uso em solos com elevada concentração de alumínio.

Em relação ao uso do molibdênio verificou-se resposta na segunda coleta indicando resposta da planta à aplicação deste micronutriente

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, S.L. **Fijacion biológica de nitrógeno por cuatro leguminosas em el trópico húmedo**. Costa Rica Guácimo, 1996, 75p. Dissertação Licenciatura em Ingeniería Agronómica - Escuela de Agricultura de la Región Húmeda.
- ALBAREDA, M.; DARDANELLI, M.S.; SOUSA, C.; MEGIAS, M.; TEMPRANO, F.; RODRIGUEZ-NAVARRO, D.N. Factors affecting the attachment of rhizospheric bacteria to bean and soybean roots. **Federation of European Microbiological Societies**, Amsterdam v.259, p.67-73, 2006.
- ALBINO, U.B.; CAMPO, R.J. Efeito de fontes e doses de molibdênio na sobrevivência de *Bradyrhizobium* e na fixação biológica em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p.527-534, 2001.
- ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil**, Dordrecht, n.252, p.1-9, 2003.
- ANDRADE, C.M.S.; GARCIA, R.; VALENTIM, J.F.; PEREIRA, O.G. Grazing management strategies for massaigrass-forrage peanut pastures. 3. Definition of sward targets and carrying capacity. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, p.352-357, 2006.
- ANDRADE, C.M.S.; VALENTIM, J.F. Adaptação, produtividade e persistência de *Arachis pintoi* submetido a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, v.28, n.3.p.439-445, 1999.
- ANDRADE, C. M. S.; VALENTIM, J. F.; CARNEIRO, J.C.; VAZ, F.A. Crescimento de gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais sob sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.3, p.263-270, 2004.
- ANDRADE, L.R.M.; BECQUER, T.; KARIA, C.T.; FARIAS NETO; A.L. RAMOS, A.K.B.; RODRIGUES, G.C. Soil functioning and development of screening methods for Al resistance in plants. In: ADVANCES IN IMPROVING ACID SOIL ADAPTATION OF TROPICAL CROPS AND FORAGES, AND MANAGEMENT OF SOILS ACID SOILS. 2005, Brasília. P.14-15.
- ANDRADE, M.J.B; ALVARENGA, P.E.; SILVA, R.; CARVALHO, J.G.; JUNQUEIRA, A.D.A. Resposta do feijoeiro às adubações nitrogenadas e molíbdica e à inoculação com *Rhizobium tropici*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras. v.25, n.4, p.934-940, 2001.
- ARANTES, P.A.Z.; INONE, T.T.; PINTRO, J.C. Utilização de um teste rápido de laboratório para discriminar a tolerância ao alumínio de diferentes genótipos de milho (*Zea mays* L.). XXIII REUNIÃO BRASILEIRA DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 1998, Caxambu, UFLA/SBCS/SBM, p.164.
- ARAUJO, A.S.; BURITY, H.A.; LYRA, M.C.C. Influencia de diferentes níveis de nitrogênio e fósforo e leucena inoculada com *Rhizobium* e fungo micorrízico arbuscular. **Revista Ecosistema, Espírito Santo do Pinhal**, v.26, n.1, p.35-38, 2001
- ARMINGER, W.H.; FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; CALDWELL, B.E. Differential tolerance of soybean varieties to an acid high in exchangeable aluminium. **Agronomy Journal**, Madison, v.60, p.67 – 71, 1968.
- ARNON, D.I.; STOUT, P.R. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. **Plant Physiology**.Bethesda, v.14, p.371-375, 1939 apud DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.M. Elementos essenciais e benéficos às plantas superiores. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006, p.1-7.
- ASAKAWA, N.M.; RAMIREZ R., C.A. Metodologia para la inoculación y siembra de *Arachis pintoi*. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.11, n.1, p.24-26, 1989.

BALDANI, V.L.; DOBEREINER, J. Alternativas para uma agricultura mais ecológica. In: SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, E.M.S.; LOPES, A.S.; GUILHERME, L.R.G.; FAQUIN, V.; FURTINI NETO, A.E.; CARVALHO, J.G. **Inter-relação fertilidade biológica do solo e nutrição de plantas**. Viçosa; SBCS; Lavras/DS 1999. p.171-174.

BALESTRASSE, K.B.; GALLEGRO, S.M.; TOMARO, M.L. Aluminium stress affects nitrogen fixation and assimilation in soybean (*Glycine max* L.). **Plant Grow Regulation**, Dordrecht, v.48, p.271-281, 2006.

BALIGAR, V.C.; ANGHINONI, I.; PITTA, G.V. E.; DOS SANTOS, H.L.; CUNHA FILHO, E.; SCHAFFERT, R.E. Aluminum effects on plant and nutrient uptake parameters of soil and solution grown sorghum genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.18, n.11, p.2325-2338, 1995.

BARINAGA, M. Making plants aluminum tolerant. **Science**, Washington, volume, p.276:1497, 1997.

BARRADAS, C.A.; HUNGRIA, M. Seleção de estirpes de *Rhizobium* para o feijoeiro. I – Precocidade para nodulação e fixação do nitrogênio. **Turrialba**, San José, v.39, n.2, p.236-242, 1989.

BENNET, R.J.; BREEN, C.M.; BANDU, V.H. Aluminum toxicity and regeneration of the root cap: preliminary evidence for a Golgi apparatus derived morphogen in the primary root of *Zea mays*. **Journal of Botany**, South African., v.51, p.363-370, 1985.

BILSKI, J.J.; FOY, C.D. Differential tolerances of oat cultivars to aluminum in nutrient solutions and in acid soils of Poland. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.10, n.2, p.129-141, 1987.

BISWAS, J.C.; LADHA, J.K.; DAZZO, F.B.; YANNI, Y.G. ROLFE, B.G. Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. **Agronomy Journal**, Madison, v.92, p.880-886, 2000.

BLAMEY, F.P.C.; EDMEADES, D.C.; WHEELER, D.M. Role of root cation-exchange capacity in differential aluminium tolerance of *Lotus* species. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.13, p.729-744, 1990.

BLAMEY, F.P.C.; EDMEADES, D.C.; ASHER, C.J.; EDWARDS, D.C.; WHEELER, D.M. Evaluation of solution culture techniques for studying aluminium toxicity in plants. In: WRIGHT, R.J.; BALIGAR, V.C.; MURMANN, R.P. (Eds.). **Plant-soil Interactions at Low pH**, p.905-912, 1991 Kluwer academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands.

BONA, L.; CARVER, B. F.; WRIGHT, R.J.; BALIGAR, V.C. et al. Aluminum tolerance of segregating wheat populations in acidic soil and nutrient solutions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.25, n.3-4, p.327-339, 1994.

BOGINO, BANCHIO, CERIONI, BONFIGLIO, GIORDANO Peanut (*Arachis hypogaea*) response to inoculation with *Bradyrhizobium* sp. in soils of Argentina. **Annals of Applied Biology**, Birmingham, v.148, n.3, p.207-212, 2006.

BRACCINI, M.C.L.; BRACCINI, A.L.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R. G.; FONTES, P.C.R. Técnicas de avaliação da toxidez do alumínio em plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas em solução nutritiva. **Revista Ceres**, Viçosa, v.43, n.245, p.3-16, 1996.

BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; BRACCINI, A.L.; MENDONÇA, S.M. Avaliação do pH da rizosfera de genótipos de café em resposta à toxidez de alumínio no solo. **Bragantia**, Campinas, v.59, n.1, p.83-88, 2000.

BRACCINI, M.C.L.; MARTINEZ, H.E.P.; SILVA, E.A. M.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. Crescimento da planta e coloração das raízes com hematoxilina como critérios de avaliação de genótipos de café quanto à tolerância à toxidez de alumínio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n.24, p.59-68, 2000.

BRADY, D.J.; EDWARDS, D.G.; ASHER, C.J.; BLAMEY, F.P.C. Calcium amelioration of aluminium toxicity effects on root hair development in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. **New Phytologist**, Cambridge, v.123, n.531-538, 1993.

BRADY, D.J.; EDWARDS, D.G.; ASHER, C.J. Effects of aluminum on the peanut (*Arachis hypogaea* L.)/*Bradyrhizobium* symbiosis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.159, p.265-276, 1994.

BRAGA, N.R.; VIEIRA, C. Efeito da inoculação com *Bradyrhizobium* sp., nitrogênio e micronutriente no rendimento de grão de bico. **Bragantia**, Campinas, v.57, n.2, p.1-5, 1998.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365.p, 1992.

CAETANO, J. H. S.; MONTARDO, D.P.; DALL'AGNOL, M. Níveis de alumínio em solução nutritiva para seleção de plantas tolerantes de alfaca e trevo vermelho. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.8, n.1-2, p.75-82, 2002.

CAIRES, E.F.; ROSOLEM, C.A. Efeito da calagem, cobalto e molibdênio sobre a concentração de clorofila nas folhas de amendoim. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.23, p.79-84, 1999.

CAIRES, E.F.; ROSOLEM, C.A. Nodulação e absorção de nitrogênio pelo amendoim em resposta à calagem, cobalto e molibdênio. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.337-341, 2000.

CALDWELL, C.R. Analysis of aluminium and divalent cation binding to wheat root plasma membrane proteins using Terbium Phosphorescence. **Plant Physiology**, v.91, n.233-241, 1989.

CAMBRAIA, J.; SILVA, M.A.; CANO, M.A.O.; SANT'ANA, R. Método simples para avaliação de cultivares de sorgo quanto a tolerância ao alumínio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.3, n.2, p.87-95, 1991.

CAMPBELL, T.A.; NUERNBERG, N.J.; FOY, C.D. Differential responses of alfalfa cultivars to aluminum stress. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.12, n.3, p.291-305, 1989.

CAMPBELL, T.A.; NUERNBERG, N.J.; FOY, C.D. Differential responses of red clover germplasms to aluminum stress. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.13, n.11, p.1463-1474, 1990.

CAMPO, R.J.; LANTMANN, A.F. Efeitos de micronutrientes na fixação biológica de nitrogênio e produtividade da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.8, p.1245-1253, 1998.

CAMPO, R.J.; HUNGRIA, M. Efeito de sementes enriquecidas com molibdênio na eficiência da fixação biológica de N₂. In: XXVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. 2001, Londrina, p.92.

CAMPOS, B.C.; GNATTA, V. Inoculantes e fertilizantes foliares na soja em área de populações estabelecidas de *Bradyrhizobium* sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.30, p.69-76, 2006.

CANÇADO, G.M.A.; PARENTONI, S.N.; BORÉM, A.; LOPES, M.A. Avaliação de nove linhagens de milho em cruzamentos dialélicos quanto a tolerância ao alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.4, p.471-478, 2002.

CARVER, B.F.; INSKEEP, W.P.; WILSON, N.P.; WESTERMAN, R.L. Seedling tolerance to aluminum toxicity in hard red winter wheat germplasm. **Crop Science**, Madison, v.28, p.463-467, 1988.

CARVER, B.F.; OWNBY, J.D. Acid solil tolerance in wheat. **Advances in Agronomy**, v.54, p.117-173, 1995.

CASTRO, S.; PERMIGIANI, M.; VINOCUR, M.; FABRA, A. Nodulation in peanut (*Arachis Hypogaea*. L.) root in the presence of native and inoculated rhizobia strains. **Applied Soil Ecology**, v.13, n.1, p.39-44, 1999.

- CERETTA, C.A.; PAVINATO, A.; PAVINATO, P.S.; MOREIRA, I.C.L.; GIROTTO, E.; TRENTIN, E.F. Micronutrientes na soja: Produtividade e análise econômica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.576-581, 2005.
- CIAT – Centro Internacional de Agricultura Tropical. **Espécies Forrajeras Tropicales: Explorando sus mecanismos de adaptación a suelos ácidos**. Cali.1991. p.49-57. (Informe CIAT).
- CIOTTI, E.M.; BERG, C.H.; CASTELAN, M.E. Efecto del encharcamiento temporário sobre el rendimiento y la nodulación de *Stylosanthes guianensis* y *Arachis pintoii*. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.28, n.1, 2006.
- CLARKSON, D.T. Interactions between aluminium and phosphorus on root surfaces and cell wall material. **Plant and Soil**, Dordrecht, XXVII, 347-356. 1967.
- CLUNE, T.S.; COPELAND, L. Effects of aluminium on canola roots. **Plant and Soil**. Dordrecht v.216, n.1, p.27-33, 2004.
- COLOMBO JUNIOR, M.; SANTOS, D.N.; SOUZA, W.J.O.; KOZUSNY-ANDREANI, D.I. Atmospheric nitrogen fixation and yield improvement in peanut cultivated under no tillage system. In: 22nd LATIN-AMERICAN CONFERENCE ON RHIZO BIOLOGY, 1st BRASILIAN CONFERENCE ON BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION. 2004, Miguel Pereira/R.J., p.126.
- CONN, H.J. **Biological Stains**. 9th ed. U.S.A.The Williams & Wilkins Company,1977,ed. 657p
- COOK, B.G.; WILLIAMS, R.J.; WILSON, G.P.M. Register of Australian herbage plant cultivars. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, n.30, p.445-446, 1990.
- CRUZ, R.; SUÁREZ, S.; FERGUSON, J.E. The contribution of *Arachis pintoii* as a ground cover in some farming systems of tropical America. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and agronomy of forage Arachis**, Costa Rica, CIAT Publication nº 240, 1994, p.102-108.
- CURTI JÚNIOR, H.M. **Efeito do alumínio e do cálcio no crescimento de leguminosas arbóreas**. Seropédica, 2001, v.1, 100p, Tese de Mestrado. Ciências Ambientais e Florestais. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- DARKÓ, E.; AMBRUS, H.; STEFANOVITS-BÁNYAI, E.; FODOS, J.; BAKOS, F.; BARNABÁS, B. Aluminium toxicity, aluminium tolerance and oxidative stress in an Al-sensitive wheat genotype an Al-tolerance lines developed by in vitro microscope selection. **Plant Science**, Limerick, v.166, n.3, p.583-591, 2004.
- DATE, R.A.; WILLIAMS, R.W.; BUSHBY, H.V.A. Screening crops and pasture legumes for effective nitrogen fixing association list of host legumes and strains of root-nodule bacteria forming effective nitrogen fixing associations Generic Resources Communication, n.17, CSIRO, 1993, 31p. apud PURCINO, H.M.; ELKAN, G. Identificação de estirpes efetivas de *Bradyrhizobium* para *Arachis pintoii* **Tropical Agriculture**, St. Augustine, v.77, n.4, p.226-231, 2000.
- DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.M. Elementos essenciais e benéficos às plantas superiores. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006, p.1-7.
- DECHEN, A.R.; NACHTIGALL, G.M. Micronutrientes. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa.2006 Cap.XIII, p.327-354.
- DEGENHARDT, J.; LARSEN, P.B.; HOWELL, S.H.; KOCHIAN, L.V. Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant alr-104 is caused by aluminum-induced increase in rizosphere pH. **Plant Physiology**, Bethesda, v.117, p.19-27, 1998.
- DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v.107, p.315-321, 1995.

- DEVANI, M.; LENIS, J.; LEDESMA, F.; AMIGO, J.; STEGMAYER, A.; PLOPER, L. D.; GANDUR, M. Inoculación de soja en la provincia de Tucumán. Resultados de la campaña 2001/02. **Avance-Agroindustrial**, Tucumán, v.23, n.3, p.12-15, 2002.
- DONG, D.; PENG, X.; YAN, X. Organic acid exudation induced by phosphorus deficiency and/or aluminium toxicity in two contrasting soybean genotypes. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.122, p.190-199, 2004.
- DUNCAN, R.R.; CLARK, R.B.; FURLANI, P.R. Laboratory and field evaluations of sorghum for response to aluminum and acid soil. **Agronomy Journal**, Madison, n.75, p.1023-1026, 1983.
- DUDA, G.P.; MONTEIRO, M.T.; GUERRA, J.G.M.; DE-POLLI, H. TEIXEIRA, M.G. Utilização de leguminosas perenes como cobertura viva do solo. Influência sobre a biomassa microbiana C, N e P. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.60, p.139-147, 2003.
- ECHART, C.L.; CAVALLI-MOLINAS, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismos de tolerância e seu controle genético. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.531-544, 2001.
- ELEFTHERIOU, E.P.; MOUSTAKAS, M.; FRAGISKOS, N. Aluminate-induced changes in morphology and ultrastructure of *Thinopyrum* roots. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v.44, p.427-436, 1993.
- ESAU, K. **Anatomy of Seed Plants**. 2ª ed., São Paulo, John Wiley & Sons, 1977. 550 p.
- FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; WRIGHT, R.J. Aluminum toxicity in crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v.11, n.3, p.303-319, 1988.
- FERGUNSON, J.E.; CARDOZO, C.I.; SÁNCHEZ, M.S. Avances y perspectivas em la producción de semilla de *Arachis pintoi*. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.14, n.2, p.14-22, 1992.
- FERREIRA, A.C.B.; ARAÚJO, G.A.A.; CARDOSO, A.A.; FONTES, P.C.K.; VIEIRA, C. Características agrônomicas do feijoeiro em função do molibdênio contido na semente e da sua aplicação foliar. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v.25, n.1, p.65-72, 2003.
- FERREIRA, A.N.; ARF, O.; CARVALHO, M.A.C.; ARAÚJO, R.S.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S. Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. **Science Agrícola**, Piracicaba, v.57, p.3, p.507-512. 2000.
- FERRUFINO, A.; SMITH, T.J.; ISRAEL, D.W.; CARTER JR, T.E. Root elongation of soybean genotypes in response to acidity constraints in a subsurface solution compartment. **Crop Science**, Madison, v.40, p.413-421, 2000.
- FORTUNATO, R.P.; NICOLOSO, F.T. Toxidez de alumínio em plântulas de grápia (*Apuleia leiocarpa* Vog. Macbride). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.89-95, 2004.
- FOY, C.D.; DEWALD, C.L.; BERG, W.A. Differential tolerances of two old world bluestem genotypes to excess aluminum in acid soil and nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.12, n.10, p.1231-1254, 1989.
- FOY, C.D. Tolerance of barley cultivars to an acid, aluminum-toxic subsoil related to mineral element concentrations in their shoots. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.19, p.1361-1380, 1996a.
- FOY, C.D. Tolerance of durum wheat lines to an acid, aluminum-toxic subsoil. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.19, p.1381-1394, 1996b.
- FOY, C.D.; FLEMING, A.L.; ARMINGER, W.H. Aluminum tolerance of soybean varieties in relation to calcium nutrition. **Agronomy Journal**, Madison, v.61, p.505-511. 1969.
- FOY, C.D.; LAFEVER, H.N.; SCHWARTZ, J.W.; FLEMING, A.L. Aluminum tolerance of wheat cultivars related to region of origin. **Agronomy Journal**, Madison, v. 66, p.751-758, 1974.
- FOY, C.D.; CHANEY, R.L.; WHITE, M.C. (1978). The physiology of metal toxicity in plants. **Annual Reviews of Plant Physiology**, Palo Alto, v.29, p.511-516, 1978.

- FOY, C.D.; ARMINGER, W.H.; BRIGGLE, L.W.; REID, D.A. Differential aluminium tolerance of wheat and barley varieties in acid soils. **Agronomy Journal**, Madison, v. 57, p.413-417, 1965.
- FRANCO, A.A.; CAMPELO, E.F.C.; SILVA, E.M.R.; FARIA, S.M. Revegetação de solos degradados. Comunicado Técnico nº.9, 9p. EMBRAPA-CNPAB, Rio de Janeiro, 1992.
- FRANCO, A.A.; DAY, J.M. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in acid soil of Brazil. **Turrialba**, San José, v.30, n.1, p.99-105, 1980.
- FRANCO, A.A.; FARIA, S.M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, New York v.29, p.897-903, 1997.
- FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. Response of *Phaseolus vulgaris* L. to molybdenum under acid conditions. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v.45, p.1144-1148, 1981.
- FRANCO, A.A.; MUNNS, D.N. Acidity and aluminum restraints on nodulation, nitrogen fixation, and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. **Soil Science Society American Journal**, Madison, v.46, p.296-300, 1982.
- FREITAS, M.C.; KOZUNSNY-ANDREANI, D.I. Selection of efficient rizobia strains in fixing atmospheric nitrogen in legume green manure. In: 22nd LATIN-AMERICAN CONFERENCE ON RHIZO BIOLOGY, 1st BRASILIAN CONFERENCE ON BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION. 2004, Miguel Pereira-R.J., p.55.
- FUENTE, J.M.L.; RAMIREZ-RODRIGUEZ, V.; CABRERA-PONCE, J.L.; HERRERA-ESTRELLA, L. Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. **Science**, Washington, n.276, p.1566-1568, 1997.
- GARLAND CAMPBELL, K.A.; CARTER, T.E., Jr. Aluminum tolerance in soybean: I. Genotypic correlation and repeatability of solution culture and greenhouse screening methods. **Crop Science**, Madison v.30, p.1049-1054, 1990.
- GOI, S.R. **Ureídos em leguminosas tropicais: ocorrência e efeitos de fatores ambientais**. Itaguaí, 1981, Tese de Mestrado. Departamento de Solos, UFRRJ.
- GOI, S.R. **Nitrogen nutrition of nodulated woody legumes**. Scotland, 1993, PhD Thesis. University of Dundee.
- GOI, S.R.; SPRENT, J.I.; JAMES, E.K.; JACOB NETO, J. Influence of nitrogen form and concentration on the nitrogen fixation of *Acacia auriculiformis*. **Symbiosis**, Israel, v.14, p.1145-122, 1992.
- GOI, S.R.; JACOB NETO, J.; SPRENT, J.I. Effect of different sources of nitrogen on the structure of *Mimosa caesalpiniaefolia* root nodules. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v.25, n.5 p.983-987, 1997.
- GOMES, E.P. **Curso de Estatística experimental**. 8^a ed. Piracicaba. ESALQ/USP, 1990, 468p.
- GRANT, C.J. **Efecto de cuatro niveles de luz en la producción de biomassa y la calidad nutritiva de cinco especies forrajeras en el trópico húmedo de Costa Rica**. Costa Rica, 1995, 84p. Licenciatura em Engenharia Agronômica com ênfasis em Produção. Universidad de Costa Rica, Turrialba.
- GRIS, E.P.; CASTRO, A.M.C.; OLIVEIRA, F.F. Produtividade da soja em resposta a aplicação de molibdênio e inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, p.151-155, 2005.
- GUALTER, R.M.R.; HENRIQUE NETO, D.; LEITE, L.F.C.; ALCANTARA, R.M.C.M.; DANTAS, J.S.; FREITAS, R.C.A.; ARAÚJO, F.S. In: I REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE E NUTRIÇÃO DE PLANTAS. CDROOM. 047. 2006.
- GUPTA, U.C.; LIPSETT, J. Molybdenum in soils, plants and animals. **Advance in Agronomy**, v.34, p.73-115, 1981.

GUTIÉRREZ-ROSALES, J.A. **Respuesta a la inoculación con cepas de Bradyrhizobium sp. de dos variedades de maní (*Arachis hypogaea*) en dos suelos de Costa Rica.** San José, 1992, 57p. Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitotecnia.

HAFNER, H.; NDUNGURU, B.J.; BATIONO, A.; MARSCHENER, H. Effect of nitrogen phosphorus and molybdenum application on growth and symbiotic N₂-fixation of groundnut in a acid sand soil in Niger. **Nutrition Cycling in Agroecosystems**, v.31, n.1, p.69-77, 1992.

HANSON, W.D.; KAMPRATH, E.J. Selection for aluminum tolerance in soybeans based on seedling-root growth. **Agronomy Journal**, Madison, v.71, p.581-586, 1979.

HANSON, W.D.(1991). Root characteristics associated with divergent selection for seedling aluminum tolerance in soybean. **Crop Science**, Madison, v.31, p.125-129, 1991.

HARRIS, H.B.; PARKER, M.B.; JOHNSON, B.J. Influence of molybdenum content of soybean seed and other factors associated with seed source on progeny response to applied molybdenum. **Agronomy Journal**, Madison, v.57, p.397-399, 1965.

HAUNG, A. Molecular aspects of aluminum toxicity. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.1, p.345-373, 1984.

HILL, P.R.; AHLRICH, J.L.; EJETA, G. Rapid evaluation of sorghum for aluminum tolerance. **Plant and Soil**, Netherlands v.114, p.85-90, 1989.

HOLMANN, F. **Ex ante analysis of new forage alternatives for farms with dual-purpose cattle in Peru, Costa Rica, and Nicaragua.** 26p. Cali. CIAT. Colombia. 2000.

HORST, W.J. Quick screening of cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes for aluminium tolerance in an aluminium-treated acid soil. **Zeitschrift Pflanzenphysiologie**, Bodenkn, v.148, p.335-348, 1985.

HORST, W.J.; PUSCHEL, A.K.; SCHMOHL, N. Induction of callose is a sensitive marker for genotypic aluminium sensitivity in maize. **Plant and Soil**, Netherlands. v.192, p.23-30; 1997.

HORST, W.J.; KLOTZ, F. Screening soybean for aluminium tolerance and adaptation to acid soils. In: EL BASSAM, N. *et al.* **Genetic aspects of plant mineral nutrition.** Kluwer Academic Publishers. 1990, p.355-360.

HORST, W.J.; WAGNER, A.; MARSCHENER, H. Mucilage protect root meristems from aluminium injury. **Zeitschrift Pflanzenphysiologie**, Bodenkn, v.105, p.435-444, 1982.

HUNGATE, B.A.; STILLING, P.D.; DIJKSTRA, P.; JOHNSON, D.W.; KETTERER, M.E.; HYMUS, G.J.; DRAKE, B.G. CO₂ elicits long-term decline in nitrogen fixation. **Science**, Washington, v.304, 1291. 2004.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T. Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.65, p.151-164, 2000.

INOUE, T.T.; OLIVEIRA, E.C.; SERON, V.D. FERREIRA JUNIOR, J.P.; MORAIS, E.G. Crescimento e nodulação da soja em função da inoculação, da adubação nitrogenada e sua combinação. In: XXVII REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS. CDROOM. 030. 2006.

ISHIZUKA, J. Characterization of molybdenum absorption and translocation in soybean plants. **Soil Science Plant Nutrition**, Tokio, n.28, p.63-78, 1982

JACOB NETO, J.; FRANCO, A.A.. Variação estacional da concentração de molibdênio nos nódulos e demais partes da planta de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Turrialba**, San José, 38, p.51-58, 1988.

JACOB NETO, J.; FRANCO, A.A. Adubação de molibdênio em soja (*Glycine max* L. Merr.). In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. 1995, Viçosa, 23-29 de julho.

JACOB NETO, J.; FRANCO, A.A. **Adubação de molibdênio em feijoeiro.** 1986, EMBRAPA. Comunicado Técnico. v.1, p.1-3.

- JACOB NETO, J.; FRANCO, A.A. Determinação do nível crítico de Molibdênio nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Turrialba**, San José, v.39, n. 2, p.215-223 1989.
- JACOB NETO, J.; FRANCO, A.A. Época de aplicação foliar visando aumentar a concentração de Mo em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: XVIII Reunião Brasileira de Ciência do Solo. 1988. Guarapari. Anais. 1988. v.1.
- JACOB NETO, J.; RAVEN, J.A. Development of a new staining method for aluminium adsorbed in the root rhizosphere. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PLANT SOIL INTERACTION AT LOW pH, 4. 1996. Belo Horizonte. EMBRAPA-CNPMS, p.36.
- JACOB NETO, J. **Variação estacional, concentração nas sementes e níveis críticos de Molibdênio nos nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Itaguaí, 1985, 141p. Tese de Mestrado. UFRRJ.
- JACOB NETO, J. **Relatório de Projeto de Pesquisa: Nível crítico de Mo nos nódulos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e concentração nas sementes**. EMBRAPA-UAPNBS. Projeto num. 040860041.p.1-9. 1998.
- JACOB NETO, J. **The interactions of H⁺/OH⁻ exchanges between roots and rhizosphere with plant nutrition and aluminium effects**. Dundee, 1993, 281p. PhD Thesis. University of Dundee.
- JACOB NETO, J.; RAVEN, J.A.; WOLLENWEBER, B. Aluminium in the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris* L. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON HEAVY METALS IN THE ENVIRONMENT. 1991. Edinburgh-Scotland. CEP Consultants Ltd. p.103-106.
- JACOB NETO, J.; RAVEN, J.A.; WOLLENWEBER, B. The influence of aluminium and nitrogen nutrition on ionic balance of *Phaseolus vulgaris* L. (no prelo). 2007.
- JACOB NETO, J.; KAUFMANN, JR, K.; SANTOS, A.V. DOS. Análise de Al na rizosfera de soja utilizando pyrocatechol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. 25, 1995, Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. v. 3, p.1305-1307.
- JACOB NETO, J.; RAVEN, J.A.; GOI, S.R.; SPRENT, J.I. The effect of aluminium on the ultrastructure of nodules of *Phaseolus vulgaris* L. In: III SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO. 1994a.
- JACOB NETO, J.; RAVEN, J.A.; SPRENT, J.I.; JAMES, E.K.; GOI, S.R. The effect of aluminium on the ultrastructure of roots and nodules of *Glycine max* (L.) Merrill L. In: III SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO. 1994b.
- JACOB NETO, J.; TAKETA, S.T.; SANTOS, A.V.; FRANCO, A.A. Soybean seed enrichment with molybdenum to supply the plant requirement. **Proceedings of the 11 th International Congress on Nitrogen Fixation**. Intitut Pasteur-Paris-France. P.630, 1997.
- JESÚS, H.D.; SILVA, J.J.; REYES, A.F.; ESCALANTE, J.A. Application of Mo in common bean inoculated with two *Rhizobium phaseoli* strains. Annual report of the bean improvement corporative. [www.css.msu.edu/bic/PDF/Report/BIC%20 volume%2045.pdf](http://www.css.msu.edu/bic/PDF/Report/BIC%20volume%2045.pdf). acesso em 26.11.2006.
- JOHNSON, C.M. Molybdenum. In: Chapman, H.D. Ed. **Diagnostic criteria for plants and soils**. University of California Division of Agricultural Sciences, Riverside, 1973, p. 286-301.
- JONES, D.L. Organic acids in the rizosphere – a critical review. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.205, p.25-44, 1998.
- JONES, D.L.; BLANCAFLOR, E.B.; KOCJIAN, L.V.; GILROY, S. Spatial coordination of aluminium uptake, production of reactive oxygen species, callose production and wall rigidification in maize roots. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.29, p.1309-1318, 2006.
- JORNS, A.C.; HECHT-BUCHHOLZ, C.; WISSEMEIER, A.H. Aluminum-induced callose formation in root tips of Norway spruce (*Picea abbles* (L.) Karst.). **Zertschrift Pflanzenphysiologie**, Bodenkd: Stuttgart, 152, p.349-353, 1991.
- KALOVOULOS, J.M.; MISOPOLINOS, N.D. Aluminum detection on corn roots by qualizarin method. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.74, p.131-132, 1983.

- KARIMIAN, N.; COX, F.R. Adsorption on extractability of molybdenum in relation to some chemical properties of soils. **Soil Science Society American Journal**. Madison, v.42, p.757-761, 1978
- KASS, D.C.L.; SYLVESTER-BRADLEY, R.; NYGREN, P. The role of nitrogen fixation and nutrient supply in some agroforestry systems of the Americas. **Soil Biology Biochemistry**, Oxford, v.29, p.775-785, 1997.
- KAUSS, H. Fluorometric measurement of callose and other 1,3- β -glucans. P.127-137. In: LINSKENS, H.F.; JACKSON, J.F. Modern methods of plants analysis, v.10 Springer Verlag. Berlin. 1989.
- KERRIDGE, P.C.; DAWSON, M.D.; MOORE, D.P. Separation of degrees of aluminium tolerance in wheat. **Agronomy Journal**. Madison, v.63, p.586-590, 1971.
- KINRAIDE, T.B. Proton extrusion by wheat roots exhibiting severe aluminium toxicity symptoms. **Plant Physiology**, Bethesda, v.88, p.418-423, 1988.
- KIDD, P.S.; PROCTOR, J. Effects of aluminum on the growth and mineral composition of *Betula pendula* Roth. **Journal of Experimental Botany**, v.51, n.347, p.1057-1066, 2000.
- KOCHIAN, L.V.; HOENGA, O.A.; PINEROS, M.A. How do crops plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. **Annual Review Plant Biology**, v.55, p.459-493, 2004.
- KOLLMEIER, M.; FELLE, H.H.; HORST, W.J. Genotypical differences in aluminium resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone. Is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminium? **Plant Physiology**. V.122, p.945-956, 2000.
- LAMAS, F.M.; MERCANTE, F.M.; OTSUBO, A.K., PASSOS, D.P. **Uso de inoculante na cultura do amendoim: efeito na produtividade**. EMBRAPA-Dourados. Comunicado Técnico, nº28, p.1-5, 2000.
- LANIER, E.J.; JORDAN, D.L.; SPEARS, J.F.; WELLS, R.; JOHNSON, P.D. Peanut response to inoculation and nitrogen fertilizer. **Agronomy Journal**, Madison, v.97, p: 79-84, 2005.
- LANTMANN, A.F. **Nutrição e produtividade de soja com molibdênio e cobalto. XX Ciclo de reuniões conjuntas da CESM-PR, produtores de sementes, mudas e responsáveis técnicos**. Artigos EMBRAPA, 08.01.2002.
- LARSEN, P.B.; KOCHIAN, L.V.; HOWELL; S.H. Al inhibits both development and root growth in als3, an Al-sensitive *Arabidopsis* mutant. **Plant Physiology**, Bethesda, v.114, p.1207-1214, 1997.
- LARSEN, P.B.; DEGENHARDT, J.; TAI, C.; STENZLER, L.M.; HOWELL, S.H.; KOCHIAN, L.V. Aluminum-resistant *Arabidopsis* mutant that exhibit altered patterns of aluminum accumulation and organic acid release from roots. **Plant Physiology**, Bethesda, v.117, p.9-18, 1998.
- LAZOF, D.B.; GOLDSMITH, J.G.; RUFTY, T.W.; LINTON, R.W. Rapid uptake of aluminum into cells of intact soybean root tips. **Plant Physiology**, Bethesda, v.106, p.1107-1114, 1994.
- LI, X.F.; MA, J.F.; HIRADATE, S.; MATSUMOTO, H. Mucilage strongly binds aluminum but does not prevent roots aluminum injury in *Zea mays*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.108, n.2, p.156-160, 2000.
- LIAO, H.; WAN, H.; SHAFF, J.; WANG, X.; YAN, X; KOCHIAN, L.V. Phosphorus and aluminum interactions in soybean in relation to aluminum tolerance. Exudation of specific organic acids from different regions of the intact root system. **Plant Physiology**, Bethesda, v.141, p.674-684, 2006.
- LIMA, R.J.; PINTO, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; SANTANA, R.A. V. Amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krapov. & Greg.). <http://www.editora.ufla.br/Boletim/pdf>

extensão/bol_01.pdf. Acesso em 09 de março de 2004.

LIMA, S.F.; ANDRADE, M.J.B.; CARVALHO, J.G. Resposta do feijoeiro à adubação foliar de boro, molibdênio e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.2, p.462-467, 1999.

LIU, H., HECKMAN, J.R.; MURPHY, J. Screening fine fescues for aluminum tolerance. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 93, p.265-271. 1996.

LOHAR, D.P.; SHAPAROVA, N. ENDRE, G.; PEÑUELE, S.; SAMAC, D.; TOWN, C.; SILVERSTEIN, K.A.T.; VANDENBOSCH, K. Transcript analysis of early nodulation events in *Mendicago trunculata*. **Plant Physiology**, Bethesda, v.140, p.221-234, 2006.

MA, J.F. Role organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. **Plant Cell Physiology**, v.4, n.4, p.383-390, 2000.

MA, J.F.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E. Aluminum tolerance in plants and complexing role of organic acids. **Trends in Plant Science**, London, v.6, n.1, p.273-278, 2001.

MACÊDO, C.E.C.; KINET, J.M.; LUTTS, S. Aluminum effects on citric and malic acid in roots and calli of rice cultivars. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.13, n.1, 2001.

MACHADO, A.N.; SIEWERDT, L.; ZONTA, E.P.; VAHL, L.C.; COLEHO, R.W.; FERREIRA, O.G.L.; AFFONSO, A.B. Rendimentos do amendoim-forrageiro estabelecido sob diferentes arranjos populacionais de plantas em planossolo. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.3, p.151-162, 2005.

MACHADO, P.L.O.M. **Considerações gerais sobre toxicidade do alumínio nas plantas**. EMBRAPA-CNPS. Documento:2, p.22, 1997.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola – Adubos e adubação**. 2ª edição. Ceres, Piracicaba, 1967, 606p.

MANNETIE, L. *Arachis pintoii* Krap. & Greg. www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/dbase/data/pf000463.htm. Acesso em 23 de janeiro de 2006.

MARCONDES, J.A.P.; CAIRES, E.F. Aplicação de molibdênio e cobalto na semente para cultivo da soja. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.4, p.687-694, 2005.

MARIN, V.A.; BALDANI, V.L.D.; TEIXEIRA, K.R.S.; BALDANI, J.I. **Fixação biológica de nitrogênio: Bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para agricultura tropical**. EMBRAPA, Seropédica-RJ.,DOC. n° 91, 1999.

MARZIAH, M.; ARIFFRIN, S.Z.; SHAMSUDDIM, Z.H. Effects of Al on growth, nodulation and polyphenol oxidase activities in groundnut. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v.27, n.4-5, p.679-681, 1995.

MARCONDES, J.A.P.; CAIRES, E.F. Aplicação de molibdênio na semente para cultivo da soja. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.4, p.687-694, 2005.

MATSUMOTO, H.; MORIMURA. Repressed template activity of chromatin of peã roots treated by aluminium. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v.21, p.951-959, 1980.

MAZZOCATO, A.C.; ROCHA, P.S.G.; SERENO, M.J.C.M.; BOHNEN, H.; GRONGO, V.; BARBOSA NETO; J.F.B. Tolerância ao alumínio em plântulas de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1. p.19-24, 2002.

McCORMICK, L.H.; BORDEN, F.Y. Phosphate fixation by aluminium in plant roots. **Soil Science Society American Proceedings**. Madison, v.36, p.779-802, 1972.

McCORMICK, L.H.; BORDEN, F.Y. The occurrence of aluminium-phosphate precipitate in plant roots. **Soil Science Society American Proceedings**. Madison v.36, p.779-802, 1972.

McLEAN, F.T.; GILBERT, B.E. The relative aluminum tolerance of crop plants. **Soil Science**, Baltimore v.24, p.163-174, 1927.

MEAGHER, W.R., JOHNSON, C. M.; STOUT, P.R. Molybdenum requirements of leguminosae plants supplied with fixed nitrogen. **Plant Physiology**, Bethesda, v.27, p.223-230, 1952.

- MELLO, R.B.; FARIA, S.M. **Compatibilidade de bactérias fixadoras de nitrogênio, rizóbio, com espécies da família leguminosa.** EMBRAPA. Comunicado Técnico. n.27, 3p, 1998.
- MENDEL, R.R.; SCHWARZ, G. Molybdoenzimas and molybdenum cofactor in plants. **Critical Review in Plant Sciences**, Boca Raton, v.18, n.1, p.33-69, 1999.
- MENOSSO, O.G.; COSTA, J.A.; ANGHINONI, I.; BOHNEN, H. Tolerância de genótipos de soja ao alumínio em solução. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.11, p.2157-2166, 2000.
- MENOSSO, O.G.; COSTA, J.A.; ANGHINONI, I.; BOHNEN, H. Crescimento radicular e produção de ácidos orgânicos em cultivares de soja com diferentes tolerâncias ao alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.11, p.1339-1345, 2001.
- MENDONÇA, R.J.; CAMBRAIA, J.; OLIVEIRA, J.A. ; OLIVA, M.A. Efeito do alumínio na absorção e na utilização de macronutrientes em duas cultivares de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.7, p.843-848, 2003.
- MERCANTE, F.M.; OTSUBO, A.A.; LAMAS, F.M. Inoculação de *Rhizobium tropici* e aplicação de adubo nitrogenado na cultura do feijoeiro. In: XXVII REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS. CDROOM. 015. 2006.
- MIRANDA, C.H.B.; VIEIRA, A.; CADISH, G. Determinação da fixação biológica de nitrogênio por intermédio da abundância natural de ¹⁵N. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1859-1865, 2003.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSARD, L. 2006. Soil organisms in Tropical Ecosystems a key role for Brazil in the Global Quest for the Conservation and Sustainable Use of Biodiversity. In: **Biodiversity in Amazonian and other Brazilian Ecosystems**. Ed: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. CABI publishing, 2006, 280p.
- MUTCH, L.A.; YOUNG, P. Diversity and specificity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* on wild and cultivated legumes. **Molecular Ecology**, v.13, p.2435-2444, 2004.
- NAMBIAR, P.T.C.; DART, P.J.; SRINIVASA RAO, B.; RAVISHANKAR, H.N. Response of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to *Rhizobium* inoculation. **Oléagineux**, Paris, v.39, n.3, p.149-155, 1984.
- NASCIMENTO, A.S.G. **Leguminosas arbóreas de florestas pluviais tropicais: comportamento ecofisiológico em relação ao nitrogênio mineral e alumínio.** Seropédica. 1998. 120p. Tese de Mestrado. Ciências Ambientais e Florestais. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- NEVES, M.C.P.; RUMJANEK, N.G. **Ecologia do rizóbio em solos tropicais.** EMBRAPA-Centro Nacional Pesquisa Agrobiologia. Seropédica, 27p. 1996.
- NOLLA, A.; SCHLINDWEIN, J.A.; ANGHINONI, I; Morfologia de raízes e liberação de carbono orgânico solúvel por plantas de soja em função da atividade de alumínio na solução do solo de campo natural. www.calcario-rs.com.br. Acesso em 26.08.2004.
- NUTTIN-OPINA, P. **Evaluacion de la calidad nutritiva y del potencial de producción de forraje y semilla del maní forrajero (*Arachis pintoi*) CIAT-18.744 en el Trópico Húmedo de Costa Rica.** Costa Rica, 1996, 52 p. Licenciatura em Ingeniería Agronômica, Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda.
- OKITO, A.; ALVES, B.J.R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M. Nitrogen fixation by groundnut and velvet bean and residual benefit to a subsequent maize crop. [Fixação de nitrogênio por amendoim e mucuna e benefício residual para a cultura de milho]. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.12; p.1183-1190, 2004.
- OLIVEIRA JUNIOR, C.S.; CARNEIRO, J.A.; PURCINO, H.; VIANNA, M.C.; VARGAS, M.A.; SÁ, N.M.H. Ocorrência e efetividade de fixação de N₂ de estirpes nativas de rizóbio associadas a *Arachis pintoi* presentes em solos de cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO

DE CIENCIA DO SOLO, 26, 1997, Rio de Janeiro. Informação, globalização, uso do solo: anais. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.38-41.

OLIVEIRA, C.A.; MUZZI, M.R.S.; PURCINO, H.A.; MARRIEL, I.E.; SÁ, N.M.H. Decomposição da serrapilheira de *Arachis pintoi* e *Hyparrhenia rufa* em sistemas de monocultura sob solo de várzea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.9, p.1089-1095, 2003.

OLIVEIRA, F.L.; SOUTO, S.M., PITARD, R.M.; Seleção de estirpes de rizóbio para leguminosas *Arachis pintoi* e *Cratylia argentea*. In: JORNADA DE INICIACAO CIENTIFICA DA UFRRJ, 1988, Seropédica, Resumos. Seropédica Imprensa Universitária, 1998, p.40.

OLIVEIRA, W.S.; TSAI, S.M. Cultivo do feijoeiro sob condições de subsistência no nordeste do estado de São Paulo-Brasil. **Sciencia Agrícola**, Piracicaba, v.58, n.2, p.265-269, 2001.

PAHLSSON, A.M.B. Influence of aluminium on biomass, nutrients, soluble carbohydrates and phenols in beech (*Fagus sylvatica*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.78, p.79-84, 1990.

PANDOVAN, M. P.; ALMEIDA, D. J.; GUERRA, J. G. M. Avaliação de cultivares de soja, sob manejo orgânico, para fins de adubação verde e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.12, p.1705-1710, 2002.

PARKER, D.R. Root growth analysis: Na underutilised approach to understanding aluminium rhizotoxicity. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.171, p.151-157, 1995.

PASQUALINI, D.; HAWERROTH, F.J.; VARGAS, V.P.; BARZOTTO, I.; ALVES, M.V.; VIAPIANA, A.M.; SANTOS, J.C.P. Avaliação dos componentes de rendimento de cultivares de feijoeiro em resposta a inoculação com *Rhizobium*. In: XXVII REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO. CDROOM. 014. 2006.

PATREZE, C. M.; CORDEIRO, L. Nodulation, arbuscular mycorrhizal colonization and growth of some legumes native from Brazil. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 19 n. 3, p 527-537, 2005

PEREIRA, J.M.; REZENDE, C.P.; SANTANA, J.R. Amendoim forrageiro cv. Belmonte (*Arachis pintoi* Krapov. & Gregory). Disponível em: www.ceplac.gov.br/AMENDOIMFORRAGEIRO. Acesso em 16/03/2004.

PEREZ, N.B.; NABINGER, C.; MARASCHIN, G.E. Desenvolvimento inicial de *Arachis pintoi* introduzido sobre pastagem nativa. In: ANAIS DA XXXII REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. 1999. p.53-56.

PERIN, A.; GUERRA, J.G.M.; TEIXEIRA, M.G. Cobertura do solo e acumulação de nutrientes pelo amendoim forrageiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.7, p.791-796, 2003.

PERIN, A.; TEIXEIRA, M.G.; GUERRA, J.G.M. Desempenho de algumas leguminosas com potencial para utilização como cobertura viva permanente de solo. **Agronomia**, Seropédica, v.34, n.1-2, p.38-43, 2000.

PETERS, M.; PLAZAS, C.; FRANCO, L.H.; BETANCOURT, A. Desarrollo de leguminosas multipropósito para cobertura en plantaciones. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.21, n.1, 2006.

PINKERTON, B.; SKIPPER, H.D. Forage legume inoculation. **Forage Leaflet 19**, South Caroline, 3p. 1992.

PIÑEROS, M.A.; MAGALHÃES, J.V.; ALVES, V.M.C.; KOCHIAN, L.V. The physiology and biophysics of an aluminum tolerance mechanism based on root citrate exudation in maize. **Plant Physiology**, Bethesda, v.129, p.1194-1206, 2002.

PINTO, P.P.; CARNEIRO, J.A.; VARGAS, M.A.T.; PURCINO, H.A.; SÁ, N.M.H. Indigenous rhizobia associated with *Arachis pintoi* in cerrado soils of Brazil. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.21, n.2, p.25-28, 1999.

PIZARRO, E.A.; RINCÓN, A. Regional experience with forage *Arachis* in South America and Mexico. p.144-157. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and agronomy of forage *Arachis***. CIAT Publication nº 240, Costa Rica. 1993, p.209. Cap.13.

PLAZAS, C.H.; LASCANO, C.E. Alternativas de uso de leguminosas para los Lhanos Orientales de Colombia. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.28, n.1, 2006.

POLIDORO, J.C.; TEIXEIRA, P.C.; DEUS, M.A.T.; URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R. avaliação da nutrição molibídica e suas interações com o fósforo e nitrogênio no crescimento de plantas de Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas com *Rhizobium*. In: XXIII REUNIAO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRICAÇÃO DE PLANTAS, 1998, Caxambu.

POLLE, E., KONZAK, C.F.; KITTRICK, J.A. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedlings roots. **Crop Science**, Madison, v.18, p.823-827, 1978.

PRIKRYL, Z.; VANCURA, V. Root exudates of plants. VI. Wheat root exudates on growth, concentration gradient of exudates and presence of bacteria. **Plant and Soil**. Netherlands. v.57, p.69-83, 1980.

PURCINO, H.M.; ELKAN, G. Identificação de estirpes efetivas de *Bradyrhizobium* para *Arachis pintoi*. **Tropical Agriculture**. St. Augustine, v.77, n.4, p.226-231, 2000.

PURCINO, H.M.A.; VARGAS, M.A.T.; SA., N.M.H.; SCOTT, M.R.; VASCONCELOS, C.A.; ELKAN, G.H. Efeito da inoculação com *Bradyrhizobium* e fungos micorrízicos em *Arachis pintoi* em solo de cerrado. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. Salvador, Sociedade Brasileira de Microbiologia. 1999, MS-032.

PURCINO, H.M.A.; SÁ, N.M.H.; VARGAS, M.A.T.; MENDES, I.C. Inoculação com rizóbio: como melhorar o desempenho do Amendoim Forrageiro (*Arachis pintoi*). **Fazendeiro-Ciência e Pesquisa-Artigos Técnicos**. <http://www.fazendeiro.com.br/cietec/artigos/ArtigosTexto.asp?cod>. Acesso em 05 de outubro de 2006.

PURCINO, H.M.A.; SA., N.M.H.; VIANA, M.C.M.; SCOTT, M.R.; MENDES, I.C.; VARGAS, M.A.T. Response, of *Arachis Pintoi* to inoculation with selected rhizobia strains in Brazilian cerrado soil under field conditions. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.25, n.2, p.26-29, 2003.

QUAGGIO, J.A.; GALLO, P.B.; OWINO-GERROH, C. et al Resposta do amendoim à calagem e ao molibdênio em solo ácido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, n.4, p.659-664, 2004.

RAIJ, B.V. **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo, Editora Agronômica CERES. 1993, p.343.

RAO, I.M.; ZEIGLER, R.S.; VERA, R.; SARKARUNG, S. Selection and breeding for acid-soil tolerance in crops. **BioScience**. Washington, v.43, n.7, p.454-466, 1993.

RAO, I.M.; KERRIDGE, P.C. Mineral nutrition of forage *Arachis* p.71-83. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and Agronomy of Forage *Arachis***. CIAT Publication; 1993, nº 240, p.209.

RAPOSEIRAS, R.; MARRIEL, I.E.; MUZZI, M.R.S.; PAIVA, E.; PEREIRA FILHO, I.A.; CARVALHAIS, L.C.; PASSOS, R.V.M.; PINTO, P.P.; SÁ, N.M.H. *Rhizobium* strains, competitiveness on bean nodulation in Cerrado soils. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.3, p.439-447, 2006.

RAVEN, J.H.; FRANCO, A.A.; JESUS, E.L.; JACOB-NETO, J. H⁺ extrusion and organic-acid synthesis in N₂-fixing symbiosis involving vascular plants. **New Phytologist**. Cambridge, v.114, p.269-289, 1990.

REID, D.A.; FLEMING, A.L.; FOY, C.D. A method for determining aluminum response of barley in nutrient solution in comparison to response in Al-toxic soil. **Agronomy Journal**. Madison, v.63, p.600-603, 1971.

REID, D.A.; JONES, G.D.; ARMIGER, W.H.; FOY, C.D.; KOCH, E.J.; STARLING, T.M.. Differential aluminum tolerance of winter barley varieties and selections in associated greenhouse and field experiments. **Agronomy Journal**. Madison, v.61, p.218-222, 1969.

REIS, V.M.; OLIVEIRA, A.L.M.; BALDANI, V.L.; OLIVARES, F.L.; BALDANI, J.I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa. p.116-153, 2006.

REISENAUER, H.M., TABIKH, A.A.; STOUT, P.R. Molybdenum reactions soils and the hydrous oxides of iron, aluminum and titanium. **Soil Science Society American Proceedings**. Madison, v.26, p.23-27, 1962.

RIBEIRO, JR, W.Q. **Eficiência e competitividade de estirpes de *Rhizobium* sp. Para *Albinia lebeck* (L.) Benth e *Enterolobium contortisiliquum* (Vellozo) Morong., em latossolo ácido**, Seropédica, 1985,160p., Tese de mestrado. Departamento de Solos, UFRRJ.

RODRIGUEZ-FLORES, R. **Determinación de la fijación biológica de nitrógeno del *Arachis pintoi* Y absorción por el *Cynodon lemfuensis* com la metodología del 15N**. Licenciatura en Ingeniería Agronómica Heredia, 1998, 104p. Universidad Nacional.

ROSSIELLO, R.O.P.; JACOB NETO, J. Toxidez de alumínio em plantas: Novos enfoques para um velho problema. In: **Nutrição Mineral de Plantas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006, p. 375-418.

RYAN, P.R.; DITOMASO, J.M.; KOCHIAN, L.V. Aluminium toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. **Journal of Experimental Botany**. Oxford, v.44, n.259, p.437-446, 1993.

RYAN, P.R., DELHAIZE, E.; JONES, D.L. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. **Annual Review Plant and Physiology Plant Molecular Biology**. Palo Alto, v.52, p.527-560, 2001.

SÁ, N.M.H.; PINTO, P.P.; PASSOS, R.V.M.; CARVALHO, J.G.; VARGAS, M.A.T.; PURCINO, H. Seasonal dynamic of native rhizobial populations associated with *Arachis pintoi* in cerrado soils. **Pasturas Tropicales**. Cali, v.23, n.1, p.29-31, 2001.

SALAZAR-ÂNGULO, C.A. **Evaluación de cepas de *Rhizobium* en cuatro leguminosas de cobertura**. San José, 1994, 48p. Licenciatura em Ingeniería Agronómica , Costa Rica, Universidad de Costa Rica.

SALINAS, J.G.; SANCHEZ, P.A. Soil plant relationships affecting varietal and species differences in tolerance to low available soil phosphorus. **Ciência e Cultura**. Campinas, v.28, n.2, p.156-168, 1975.

SAMARÃO, S.S.; DIDONET, A.D.; NEIVA, L.C.S.; DUQUE, F.F.; GOI, S.R.; JACOB NETO, J.; MONTEIRO, P.M.F.O.; ROLIM, R. Influência da calagem e micronutrientes na nodulação da soja por *Rhizobium japonicum* em solos ácidos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.3, p.237-244, 1986.

SANTOS, C.E.R.S.; STANFORD, N.P.; FREITAS, A.D.S.; VIEIRA, I.M.M.B.; SOUTO, S.M.; NEVES, M.C.P.N.; RUMJANEK, N.G. Efetividade de rizóbbios isolados de solos da região Nordeste de Brasil na fixação do N₂ em Amendoim (A.H.L.). **Acta Science Agronomy** , Maringá, v.27, n.2, p. 301-307, 2005.

SANTOS, C.H.; GRASSI FILHO, H.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. Níveis de alumínio e o desenvolvimento de porta-enxerto cítricos em cultivo hidropônico. I- Parâmetros biométricos. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v.56, n.4, 1999.

SCALETSKY, E.C.; OLIVEIRA, A.L.V.S.C. **Iniciando na pesquisa: Manual para elaboração da monografia e projetos de iniciação científica**. Seropédica, 2ªed., 76p., 1999.

SAPRA, V.T.; MEBRAHTU, T.; MUGWIRA, L. M. Soybean germoplasm and cultivar aluminum tolerance in nutrient solution and bladen clay loan soil. **Agronomy Journal**. Madison, v.7, p.:687-690, 1982.

SARTAIN, J. B.; KAMPRATH, E. J. Aluminum tolerance of soybean cultivars based on root elongation in solution culture compared with growth in acid soil. **Agronomy Journal**. Madison, v.70, p.17-20, 1978.

SCHEEFFER-BASSO, S.M.; AGNOL, M.D.; CAETANO, J.H.S.; JACQUES, A.V.A. Crescimento de plantas de *Adesmia* spp. submetidas a doses de alumínio em solução nutritiva. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.2, p.217-222, 2000.

SCHOTTELNDREIER, M.; NORDDAHL, M. M.; STROM, L.; FALKENGREN-GRERUP, U. Organic acid exudation by wild herbs in response to elevated Al concentrations. **Annals of Botany**. England, v.87, p.769-775, 2001

SEGUIN, P.; SHEAFER, C.C.; EHLKE, N.J.; RUSSELE, M.P.; GRAHAM, P.H. Nitrogen fertilization and rhizobial inoculation effects on kura clover growth. **Agronomy Journal**,v.93, p.1262-1268, 2001.

SFREDO, G.J.; BORKERT, C.M.; NEPOMUCENO, A. L.; OLIVEIRA, M.C.N. Eficácia de produtos contendo micronutrientes aplicados via semente, sobre produtividade e teores de proteína da soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa, v.21, p.41-45, 1997.

SHAMSUDDIM, Z.H.; KARRAN, R.; EDWARDS, D.G.; BLAMEY, F.P.C. Effects of calcium and aluminum on nodulation, nitrogen fixation and growth of groundnut in solution culture. **Plant and Soil**. Dodrecht, v.144, n.2, p.273-279, 1992.

SIGAVURU, M.; HORST, W.J. The distal part of the transition zone is the most aluminum-sensitive apical root zone of maize. **Plant Physiology**. Bethesda, v.119, p.155-163, 1998.

SILVA, H.A.S.S.; GOI, S.R.; JACOB NETO, J.; PITARD, R.M. Inoculação de rizóbios em plantas de *Arachis pintoi*, cultivar Amarillo, cultivar Belmonte e acesso BRA-031534, propagados vegetativamente. In: XXVII REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO. CDROOM. 018. 2006.

SILVA, H.A.S.S.; GOI, S.R.; PITARD, R.M. JACOB NETO, Inoculação de rizóbios em plantas de *Arachis pintoi*, cultivar Belmonte, propagados vegetativamente. **Agronomia**, Seropédica, v.38, n.2, p.55-58, 2004.

SILVA, I. R.; SMYTH, T. J.; RAPER, C. D.; CARTER, T. E.; RUFTY, T. W. Differential aluminum tolerance in soybean: An evaluation of the role of organic acids. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v.112, n.2, p.200-x, 2001.

SILVA, M.V.; ANDRADE, M.J.B.; RAMALHO, M.A.P.; ALVES, V.G. Aplicação simultânea de molibdênio e alguns defensivos agrícolas na cultura do feijoeiro. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.5, p.1160-1164, 2003.

SILVA, M.V.; ANDRADE, M.J.B.; RAMALHO, M.A.P., ALVES, V.G. Aplicação simultânea de molibdênio e alguns defensivos agrícolas na cultura do feijoeiro. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.5, p.1160-1164, 2003.

SIMONOVICOVÁ, M.; HUTTOVÁ, J.; MISTRÍK, I.; SIROKÁ, B.; TAMÁS, L. Root growth inhibition by aluminum is probably caused by cell death due to peroxidase mediate hydrogen peroxide production. **Protoplasma**. Bonn, v.224, p.91-98, 2004.

SOARES, A.P.; RESENDE, A.S.; URQUIAGA, S.; CAMPELLO, E.F.C.; FRANCO, A.A. Estabelecimento, produção de fitomassa, acúmulo de macronutrientes e estimativa da fixação biológica de nitrogênio em *Arachis*. **Pasturas Tropicais**. Cali, v.28, n.2, 2006.

SOUZA, M.F.M.; VALE, H.M.M.; STRALIOTTO, R. Competitividade de estirpes pertencentes a diferentes espécies de rizóbio para ocupação nodular em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agronomia**, Seropédica, v.37, n.1, p.59-63, 2003.

SOUZA, L.A.C. Reação de genótipos de soja ao alumínio em hidroponia e no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília. v.36, n.10, p.1255-1260, 2001.

SPEHAR, C.R.; MAKITA, M. Tolerância ao alumínio em plântulas de soja e sua utilização. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília v.29, n.2, p.1927-1932, 1994.

SPRENT, J.; SPRENT, P. Nitrogen fixing organisms pure and applied aspects. 2^a. Ed. p.256. 1990.

SPRENT, J. Mechanisms of infection of plants by nitrogen fixing organisms. **Plant and Soil**. Dordrecht, v.110, p.157-165, 1988.

SUDIM, M.F.C.A.M.; ALVES, J.M.; BALDANI, V.L.D.; GOI, S.R.; JACOB-NETO, J. Respostas de cultivares de arroz à aplicação de molibdênio e diferentes fontes de nitrogênio. **Agronomia**. Seropédica, v.36, n.1-2, p.56-61, 2002.

SUNG, F.J.M.; SUN, Y.W. Seasonal patterns of nitrate reductase and nitrogenase activities in *Arachis hypogaea*. **Field Crops Research**. Amsterdam, v.25, n.3-4, p.15-222, 1990.

TABUCHI, A.; MATSUMOTO, H. Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminum-induced growth inhibition. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen. v.112, n.3, p.353-358, 2001.

TABUCHI, A.; KIKUI, S.; MATSUMOTO, H. Differential effects of aluminium on osmotic potential and sugar accumulation in the root cells of Al-resistant and Al-sensitive wheat. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v.120, n. 1, p.106-112. 2004.

TAMÁS, L.; HUTTOVÁ, J.; MISTRÍK, I. SIMONOVICOVA, M.; SIROKÁ, B. Aluminon-induced drought oxidative stress in barley roots. **Journal of Plant Physiology**. Stuttgart, v.163, p.781-784, 2006.

TAYLOR, G.J. Overcoming to understanding the cellular basis of aluminum resistance. **Plant and Soil**. Dordrecht, v.171, p.89-103, 1995.

TAYLOR, G.J.; FOY, C.D. Mechanisms of aluminum tolerance in *Triticum aestivum* L. (Wheat). I. Differential pH induced by winter cultivars in nutrient solutions. **American Journal Botany**. Columbus, v.72, n.5, p.695-701, 1985a.

TAYLOR, G.J.; FOY, C.D. Mechanisms of aluminum tolerance in *Triticum aestivum* L. (Wheat). II. Differential pH induced by winter cultivars in nutrient solutions. **American Journal Botany**. Columbus, v.72, n.5, p.695-701, 1985b.

TAYLOR, G.J. Current views of the aluminum stress response; the physiological basis of tolerance. In: RANDALL, D.D.; BLENVIS, D.G.; MILES, C.D. **Current Topics in Plant Biochemistry**. University of Missouri. 1991, p.57-93.

TAYLOR, G.J. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. **Communications in Soil Science Plant Analysis**. New York, v.19, 1179-1194. 1988.

TEIXEIRA, K.R.S.; MARIN, V.A.; BALDANI, J.I. **Nitrogenase: Bioquímica do processo de FBN**. EMBRAPA. Seropédica, n.84, 27p., 1998.

THOMAS, R.J.; ASAKAWA, N.M.; RONDON, M.A.; ALARCON, H.F. Nitrogen fixation by three tropical forage legumes in an acid-soil savanna of Centro Internacional de Agricultura Tropical-Colombia. **Soil Biology Biochemistry**. New York, v.29, n.5-6, p.801-808, 1997.

THOMAS, R.J. Rhizobium requirements, nitrogen fixation, and nutrient cycling in forage *Arachis*. p.84-94. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. **Biology and agronomy of forage Arachis**. Costa Rica. CIAT Publication n° 240. 1994, p.209.

TICE, K.R.; PARKER, D.R.; DEMASON, D.A. Operationally defined apoplastic and symplastic aluminum fractions in root tips of aluminum intoxicated wheat. **Plant Physiology**. Bethesda, v.100, n.3, p.9-318, 1992.

TOMIOKA, R.; ODA, A.; TAKENAKA, C. Root growth enhancement by rhizospheric aluminum treatment in *Quercus serrata* Thunb. seedlings. **Journal of Forest Research**. Springer Japan, v.10, n.4, p.319-324, 2005.

- TONEATTI, M.; RIVERA, N.R. Ensayos de tolerancia al aluminio de *Bromus stamineus* y *Bromus lithobius* recolectados em el sur de Chile. **Información Tecnológica**, La Serena, v.17, n.1, p.9-14, 2005.
- TORREALBA, G.T.; VIERA, J.; BRAVO, P. Factores relacionados con la acidez del suelo y su efecto sobre el crecimiento de la *Canavalia eusiformis* (L.) D.C. **Agronomia Tropical**, Maracay, v.48, n.1, p.19-32, 1998.
- URQUIAGA, S.; RESENDE, A.S.; ALVES, B.J.; BODDEY, R.M. Importância do molibdênio na fixação biológica e na nutrição nitrogenada da cultura da cana de açúcar. In: ANAIS DO XXIII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIENCIA DO SOLO. 1996. Águas de Lindóia. S.P.
- URREA-GÓMEZ, R.; CEBALLOS, H.; PANDEY, S.; BAHIA, A.F.C. FILHO; LEON, L.A. A greenhouse screening technique for acid soil tolerance in maize. **Agronomy Journal**. Madison, v.88, p.806-812, 1996.
- VALENTIM, J.F.; ANDRADE, C.M.S. Partição de biomassa e banco de sementes de acesso de amendoim forrageiro na Amazônia Ocidental Brasileira. In: 40ª REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Santa Maria, 2003, p.1-8.
- VALENTIM, J.F.; ANDRADE, C.M.S.; MENDONÇA, H.A.; SALES, M.F.L. Velocidade de estabelecimento de acessos de amendoim forrageiro na Amazônia Ocidental. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.32, n.6, p.1569-1577, 2003.
- VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J. da C.; SALES, M.F.L. **Leguminosas para diversificação de pastagens e conservação de solo no Acre**. Rio Branco. EMBRAPA Acre, Circular Técnicas, n° 43. 2001.
- VALENTIM, J.F.; CARNEIRO, J. da C.; VAZ, F.A.; SALES, M.F.L. **Produção de mudas de *Arachis pintoi* cv. Belmonte no Acre**. Rio Branco. EMBRAPA Acre, Instruções Técnicas, 2000, n° 33. 4p.
- VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.R. Efeito de tipos e níveis de inoculante na soja cultivada em um solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.15, n.3, p.343-347, 1980.
- VARGAS-PATIÑO, W. **Evaluación de três métodos de siembra e inoculación en el establecimiento de *Arachis pintoi* con material vegetativo**. San José, 1996.118p. Licenciatura en Ingeniería Agronómica, Universidad de Costa Rica.
- www.fao.org/ag. *Arachis pintoi* Krap. & Greg. Acesso em 17-11-2003.
- VASCONCELOS, S.S. **Métodos de avaliação de tolerância a toxidade de alumínio em cultivar de arroz (*Oryza sativa* L.)**. Seropédica, 1997, 134p. Tese de Mestrado. Ciência do Solo.
- VASCONCELOS, C.A.; PURCINO, H.; MELO VIANNA, M.C.; MOURA FRANÇA, C.C. Resposta do *Arachis pintoi* ao fósforo e ao calcário em latossolo vermelho escuro da região de Sete Lagoas, MG, Brasil. **Pasturas Tropicais**. Cali, v.20, n.3, p.22-25, 1998.
- VASCONCELOS, S.S.; JACOBNETO, J ROSSIELLO, R.O.P. Differential root responses to aluminum stress among Brazilian rice genotypes. **Journal of Plant Nutrition**. New York, v.25, n.3, p.655-669, 2002.
- VAZQUEZ, M.D.; POSCHENRIEDER, C.; CORRALES, I.; BARCELÓ, J. Change in apoplastic aluminum during initial growth response to aluminum by roots of a tolerance maize variety. **Plant Physiology**. Bethesda, v.119, p.435-444, 1999.
- VELOSO, C.A.C.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T.; CARVALHO, E.J.M. Alumínio e a absorção de cálcio por mudas de pimenta do reino. **Sciencia Agrícola**. Piracicaba, v.57, n.1, p.141-145, 2000.
- VENKATESWARLU, M.; MAHESWARI, M.; REDDY, G.S. Relationship between nodulation, nitrogen fixation rate, N-harvest index and kernel yield in different groundnut varieties under dryland conditions. **Oleagineux**. Paris, v.46, n.6, p.239-243, 1991.

VICENTE, F.M.P.; ROSSIELLO, R.O.P.; PEREIRA, M.B. Características indicativas de sensibilidade ao alumínio em arroz. I. Crescimento em solução nutritiva. [http://atlas.sct.embrapa.br/pab/pab.nst/0/a752516ff143110b032565a30072b01c/\\$/FILE/PAB02696.doc](http://atlas.sct.embrapa.br/pab/pab.nst/0/a752516ff143110b032565a30072b01c/$/FILE/PAB02696.doc). Em 06.01.2004.

VIEIRA, R.F.; VIEIRA, C.; CARDOSO, E.J. B.N.; MOSQUIM, P.R. Foliar application of molybdenum in common bean. II. Nitrogenase and nitrate reductase activities in a soil of low fertility. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.21, p.168-180, 1998a.

VIEIRA, R.F.; CARDOSO, E.J.B.N. VIEIRA, C.; CASSINI, S.T.A. Foliar application of molybdenum in common bean. III. Effect on nodulation. **Journal of Plant Nutrition**. local, Monticello, v.21, n.10, p.2153-2161, 1998b.

VILLAGARCIA, M.R.; CARTER JR, T.E.; RUFTY, T.W.; NIEWOEHNER, A.S.; JENNETTE, M.W.; ARRELLANO, C. Genotypic rankings for aluminium tolerance of soybean roots grown in hydroponics and sand culture. **Crop Science**, Madison, v.41, p.1499-1507, 2001.

VILLALOBOS, L.; TARRÉ, R.M.; MACEDO, R.; ALVES, B.J.R.; SEGUNDO, U.; BODDEY, R.M. ¹⁵N determination of the contribution of BNF to the forage legumes *Arachis pintoi*. In. 12th INTERNATIONAL CONGRESS ON NITROGEN FIXATION. 1999, Fóz do Iguaçu, 1999, p.90.

VINCENT, J.M.A. **A manual for practical study of the root-nodule bacteria**. Black Well Scientific Publications. Oxford. 1970, 164p.

VOSS, M; POTTKER, D. Adubação com molibdênio em soja, na presença ou ausência de calcário aplicado na superfície do solo, em plantio direto. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.31, n.5, p.787-791, 2001.

WAGATSUMA, T.; AKIBA, R. Low surface negativity of root protoplast from aluminum-tolerance plant species. **Soil Science Plant Nutrition**. Tokyo, v.35, p.443-452, 1989.

WAGATSUMA, T. Characterization of absorption sites for aluminum in roots. **Soil Science Plant Nutrition**. Tokyo, v.29, n.4, p.499-515, 1983.

WAGATSUMA, T., KAWASHIMA, T.; TAWARAYA, K. Comparative stainability of plant root cells with basic dye (methylene blue) in association with aluminum tolerance. **Communications Soil Science Plant Analysis**. New York, v.19, p.1207-1215, 1988.

WENZL, P.; PATINO, G.M.; CHAVES, A.L.; MAYER, J.E.; RAO, I.M. The high level of aluminum resistance in signalgrass is not associated with know mechanisms of external aluminum detoxification in root apices. **Plant Physiology**. Bethesda, v.125, n.3, p.1473-1484, 2001.

WHEELER, D.M. Effects of growth period, plant age and changes in solution aluminium concentrations on aluminium toxicity in wheat. **Plant and Soil**. Dordrecht, v.166, p.21-30, 1994.

WHITE, P.J. Al's families: the phylogeny of aluminium accumulation in angiosperms. **Trends in Plant Science**. London, v.7, n.12, p.526, 2002.

WILKINSON, K. M.; ELEVITCH, C. R. Biological nitrogen fixation. The Overstory Agroforestry Journal. <http://www.overstory.org>. Em 14.01.2004.

WISSEMEIER, A. H.; KLOTZ, F.; HORST, W. J. Aluminum induced callose synthesis in roots of soybean (*Glycine max* L.). **Journal of Plant Physiology**. Stuttgart, v.129, p.487-492, 1987.

WISSEMEIER, A. H.; DIENING, A.; HERGENRODER, A.; HORST, W. J; MIX-WAGNER, G. Callose formation as parameter for assessing genotypical plant tolerance of aluminium and manganese. **Plant and Soil**. Dordrecht, v.146, p.67-75, 1992.

WRITHT, K.E. The internal precipitation of phosphorus in relation to aluminium toxicity. **Plant Physiology**. Bethesda, v.18, p.708-712, 1943.

WRIGHT, R.F.; LOTSE, E.; SEMB, A. Reversibility of acidification shown by whole-catchment experiments. **Nature**, n.334, p.670-675, 1988.

WRITHT, K.E.; DONAHUE, B.A. Aluminium toxicity studies with radio-active phosphorus. **Plant Physiology**. Bethesda, v.28, p.678-680, 1953.

YANG, Z. M.; SIVAGURU, M.; HORST, W. J.; MATSUMOTO, H. Aluminium tolerance is achieved by exudation of citric acid from roots of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v.110, n.1, p.72-x, 2000.

ZHENG, S. J.; MA, J. F.; MATSUMOTO, H. High aluminum resistance in Buckwheat. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. **Plant Physiology**. Bethesda, v.117, p.745-751, 1998.

ZHENG, S. J.; YANG, J.L.; HE, Y.F.; YU, X.H.; ZHANG, L.; YOU, J.F.; SHEN, R.F.; MATSUMOTO. Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in Buckwheat. **Plant Physiology**. Bethesda, v.138, p. 297-303, 2005.

ZONTA, E.; BRASIL, F.C.; GOI, S.R.; ROSA, M.M.T. O sistema radicular e suas interações com o ambiente edáfico. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2006, p.7-53.

ZONTA, E.; CHAGAS, K, A.; COMETTI, N. N.; CASTRO, R. N.; PEREIRA, M. G.; FERNANDES, M. S. Tolerância ao alumínio em arroz de sequeiro: exudação de ácidos orgânicos e crescimento radicular. **Agronomia**. Seropédica, v.37, n.1, p.46-49, 2003.