

Rodrigo Antonio Nuncio Junior

**A APLICAÇÃO FOLIAR DE Mo E Co ATENUA O DESBALANÇO DE N EM
MARACUJAZEIRO?**

Buri/SP

2020

Nuncio-Junior, Rodrigo

A aplicação foliar de Mo e Co atenua o desbalanço de N em maracujazeiro? / Rodrigo Nuncio-Junior. -- 2020.
52 f. : 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação)-Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri
Orientador: Daniel Baron
Banca examinadora: Daniel Baron, Valdir Zucareli, Felipe Giroto Campos
Bibliografia

1. Estresse abiótico. 2. Fisiologia vegetal. 3. Nutrição mineral de plantas.
I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto – CRB/8 7539

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRONÔMICA

Rodrigo Antonio Nuncio Junior

**A APLICAÇÃO FOLIAR DE Mo E Co ATENUA O DESBALANÇO DE N EM
MARACUJAZEIRO?**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Engenharia Agrônômica para
obtenção do título de Bacharel em Engenharia
Agrônômica.

Orientação: Prof. Adjunto Daniel Baron

Financiamento: Fundação de Amparo à
Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP

Buri/SP

2020

RODRIGO ANTONIO NUNCIO JUNIOR

A APLICAÇÃO FOLIAR DE MO E CO ATENUA O DESBALANÇO DE N EM
MARACUJAZEIRO?"

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Agrônômica pela
Universidade Federal de São Carlos.

Aprovado em: 10/06/2020.

BANCA EXAMINADORA

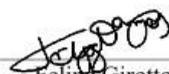


Prof. Dr. Daniel Baron
Coordenador do Centro de Estudos de Nutrição
e Fitopatologia - CENUT

Daniel Baron (Orientador)
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)



Valdir Zucareli
Universidade Estadual de Maringá (UEM)



Felipe Girotto Campos
Universidade Estadual Paulista (UNESP)

DEDICATÓRIA

Dedico a minha família, em especial meus pais **Rodrigo Antonio Nuncio** e **Luciana Paula Passolongo Nuncio**, por serem minha base e que com todo apoio, dedicação e sacrifícios fizeram com que eu chegasse até aqui e me tornar o que sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, por conceder saúde e sabedoria me permitindo chegar até aqui.

Agradeço à **Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)** *campus* Lagoa da Sino (município de Buri/SP).

À minha mãe **Luciana Paula Passolongo Nuncio**, pelo carinho e auxílio em todos os momentos.

Ao meu pai **Rodrigo Antonio Nuncio**, pela motivação e apoio incondicional.

Aos professores **Daniel Baron** e **Iuri Emmanuel de Paula Ferreira** pelas orientações e ensinamentos.

Aos membros titulares da banca examinadora, Dr. **Felipe Giroto Campos** (UNESP) *campus* Botucatu/SP e Professor **Valdir Zucareli** (UEM) *campus* regional de Umuarama/PR.

À **Larissa Cristina de Campos Silva**, pela cumplicidade e apoio durante a graduação.

Aos **professores** e **técnicos** da Universidade Federal de São Carlos, por todos o conhecimento transmitido e que permitiram minha capacitação.

Aos membros do Grupo de estudo “**Pesquisa e Extensão em Fisiologia Vegetal**” (PexFisio) pelo auxílio na parte prática deste trabalho.

À existência da **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo** (FAPESP), pelo auxílio financeiro deferido para a realização deste estudo.

RESUMO

NUNCIO-JUNIOR, Rodrigo Antonio. A aplicação foliar de Mo e Co atenua o desbalanço de N em maracujazeiro?. 2020. 51f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) – Universidade Federal de São Carlos, Buri, 2020.

O conhecimento sobre o equilíbrio nutricional no estágio fenológico inicial é obrigatório para contornar as limitações de disponibilidades nutricionais exigidas pelas espécies vegetais. No entanto, é pouco elucidado para maracujazeiro [*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener] sobre o estresse por privação de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) nos estádios fenológicos do crescimento inicial. Nossa hipótese testou a existência de benefícios da aplicação foliar (*spray*) de molibdênio (Mo) e cobalto (Co) sob diferentes disponibilidades (% de N) de uma única fonte de nitrogênio (NO_3^-) nos conteúdos de pigmentos fotossintetizantes e crescimento vegetal durante o estágio fenológico inicial de desenvolvimento. O fornecimento de nutrientes foi realizado com a solução nutritiva Hoagland e Arnon nº01, que é privada de NH_4^+ . Os tratamentos empregados foram baixos, moderados e altos suprimentos de elementos minerais (25%, 50% e 100% de N) combinados com a ausência / presença de *spray* de Co e Mo. O experimento foi conduzido em esquema fatorial com delineamento inteiramente casualizado e os dados de crescimento e produção vegetal (conteúdo de massa de matéria seca e pigmentos fotossintetizantes) foram analisados por ANOVA e ANCOVA, respectivamente. As medidas de crescimento como resposta aos tratamentos foram estudadas através do procedimento de ‘Scott-Knott’, e os efeitos e interações significativos foram explorados por comparações *post hoc* médias (teste de Tukey). A partir dos resultados, observamos que o *spray* de Co e Mo diminuiu as discrepâncias entre o crescimento das plantas em diferentes disponibilidades de N. Além disso, verificamos que o conteúdo de pigmentos fotossintéticos foi maior com baixa oferta de nutrientes (25% de N) sem *spray* de Co e Mo, o que nos habilita a rejeitar nossa hipótese de nulidade e aceitar a hipótese alternativa. Assim, concluímos que a aplicação foliar combinada de Mo e Co em diferentes disponibilidades de N atenuaram o estresse vegetal por deficiência de NO_3^- e privação de NH_4^+ durante o estágio inicial de desenvolvimento vegetativo de plantas jovens de *P. edulis* em viveiro.

Palavras-chave: Estresse abiótico. Elementos minerais benéficos. Elementos minerais essenciais. Hidroponia. Passiflora. Nutrição vegetal.

ABSTRACT

NUNCIO-JUNIOR, Rodrigo Antonio. Does Mo and Co foliar spray mitigate passion fruit N desbalance in passion fruit?. 2020. 51f. Course Completion Work (Graduation in Agronomic Engineering) - Federal University of São Carlos, Buri, 2020.

Knowledge about the nutritional balance at initial phenological stage is mandatory to circumvent limitations on the nutritional availabilities required by the plant species. However, little is elucidated to passion fruit [*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener] about nitrate (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+) deprivation stress to initial growth phenological stages. Our hypothesis tested the benefits of foliar application (spray) of molybdenum (Mo) and cobalt (Co) under different availability (N %) from a single source of nitrogen (NO_3^-) in the contents of photosynthetic pigments and plant growth during the initial phenological stage of development. The essential mineral elements were supplied with the Hoagland and Arnon n°01 nutrient solution, which is deprived of NH_4^+ . The treatments employed were low, moderate and high supplies of mineral elements (25%, 50% and 100% N) combined with the absence / presence of Co and Mo spray. The experiment was conducted in a factorial scheme with a completely randomized design and the data of growth and plant production (dry matter content and photosynthetic pigments) were analyzed by ANOVA and ANCOVA, respectively. Plant growth measures in response to treatments were studied using the 'Scott-Knott' procedure, and significant effects and interactions were explored by average post hoc comparisons (Tukey test). From the results, we observed that the spray of Co and Mo reduced the discrepancies between the plant growth in different availability of N. In addition, we verified that the content of photosynthetic pigments was higher with low supply of nutrients (25% N) without Co and Mo spray, which enables us to reject our null hypothesis and accept the alternative hypothesis. Thus, we conclude that the combined foliar application of Mo and Co in different availability of N attenuated plant stress due to NO_3^- deficiency and NH_4^+ deprivation during the early stage of vegetative development of young plants of *P. edulis* in nursery.

Keywords: Abiotic stress. Beneficial mineral elements. Essential mineral elements. Hydroponic. *Passiflora*. Plant nutrition.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Implantação e condução de experimento preliminar de plantas de maracujazeiro cultivadas em substrato vermiculita com aplicação, via radicular, de solução nutritiva completa Hoagland e Arnon 1950 (nº01 e nº2)..... | 22 |
| Figura 2 – Soluções estoques da solução nutritiva nº1 com diferentes disponibilidades de N (A); Soluções estoques referentes a aplicação foliar (B)..... | 23 |
| Figura 3 – Pulverizador costal dotado de cilindro de CO ₂ e aferição manométrica da pressão através de uma ponta do tipo leque simples (modelo AD/T 110 02)..... | 24 |
| Figura 4 – Plantas de maracujazeiro durante abscisão foliar e amarelecimento de folhas (A e B) | 28 |
| Figura 5 – Fruto de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) | 31 |
| Figura 6 – Bandejas de poliestireno semeada com sementes de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) preenchidas com o substrato vermiculita de textura média..... | 31 |
| Figura 7 – Plantas jovens de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) em tubetes mantidos em ambiente telado..... | 32 |
| Figura 8 – Soluções estoques utilizadas para a condução do experimento. Soluções estoques (A); Pulverizador costal dotado de manômetro de pressão e soluções estoques de Mo + Co (B)..... | 32 |
| Figura 9 – Medições de crescimento vegetal de plantas jovens de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) com utilização de régua graduada..... | 34 |

- Figura 10 – Estufa com circulação de ar forçada com material vegetal de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) para obtenção da massa de matéria seca.....34
- Figura 11 – Amostra de folhas de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) congeladas com nitrogênio líquido (A); Centrifugação de amostras de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) a 10.000xg por 5min. a 4°C (B); Remoção do sobrenadante da amostra de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) para análise no espectrofotômetro (C); Espectrômetro utilizado para realizar as leituras (D).....35
- Figura 12 – Medidas de crescimento ao longo do tempo (dias após o transplante – DAT) de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) para diferentes disponibilidade de N e aplicação foliar de Mo e Co (T1, T2 e T3 são 25, 50 e 100% de N sem aplicação foliar de Mo/Co; e T4, T5 e T6 são 25, 50 and 100% de N com *spray*). Os valores médios de N = 17 se replicam a cada vez. As avaliações nas quais houve formação de médias de grupos pelo método de Scott-Knott ($P < 0,05$) são identificadas por asteriscos (*)......39
- Figura 13 – Matéria seca do caule e pecíolo de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) em função da aplicação foliar e diferentes disponibilidades de N (Média \pm Erro Padrão). Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey com $\alpha = 0,05$. Letras maiúsculas são usadas para comparar as diferentes disponibilidades entre as condições de aplicação foliar, enquanto as letras minúsculas comparam os níveis de aplicação foliar em cada disponibilidade de N40
- Figura 14 – Distribuição dos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóide (mg / g) em *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro). *** As correlações lineares de Pearson foram significativas no nível de $\alpha = 0,001$41
- Figura 15 – Conteúdo dos pigmentos clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóide em plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) nas diferentes condições de fornecimento de N e aplicação foliar de Mo e Co (Média \pm Erro Padrão, n = 6 repetições).

Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey com $\alpha = 0,05$. Letras maiúsculas são usadas para comparar as de disponibilidade de N entre as condições de aplicação foliar, enquanto as letras minúsculas comparam os níveis de aplicação foliar em cada disponibilidade de N iônica.....42

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| <p>Tabela 1 – Análise de variância (ANOVA) dos dados lineares de crescimento nos tempos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 DAT para as variáveis diâmetro de caule, comprimento de caule, área foliar, altura de planta, número de folhas de plantas de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) (n=12) cultivadas sob aplicação via foliar de cobalto e molibdênio e via radicular de Hoagland; Arnon (1950) n°01.....</p> | 26 |
| <p>Tabela 2 – Análise de variância (ANOVA) dos pigmentos fotossintéticos de plantas de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) cultivadas sob aplicação, via foliar, de cobalto e molibdênio e, via radicular, de Hoagland & Arnon (1950) n°01.....</p> | 26 |
| <p>Tabela 3 – Comparação de médias para as variáveis para as análises lineares de crescimento de plantas de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) cultivadas sob aplicação via foliar de cobalto e molibdênio e via radicular de Hoagland & Arnon (1950) n°01.....</p> | 27 |
| <p>Tabela 4 – Solução nutritiva de Hoagland e Arnon n°1 (ausência de fonte de amônio, NH₄⁺) contendo macronutrientes, com diferentes concentrações de nitrogênio, micronutrientes e solução de ferro-EDTA.....</p> | 33 |
| <p>Tabela 5 – Resultados da análise de variância para medidas de crescimento de planta em função do tempo (DTA), aplicação foliar de Co/Mo (<i>spray</i>) e disponibilidades de N em plantas jovens de <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro).....</p> | 38 |
| <p>Tabela 6 – Resultados da análise de variância e covariância (ANCOVA) para o conteúdo de pigmento foliar a 120 DAT em 6 repetições (n = 6) pelo tratamento de plantas jovens de <i>Passiflora edulis</i> Sims f. <i>flavicarpa</i> Degener (maracujazeiro) (dados transformados pela função logarítmica).....</p> | 42 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico

BPCP bactérias promotoras de crescimento de plantas

Ax auxina

Car carotenóides

CE condutibilidade elétrica

CK citocinina

Cl_a clorofila *a*

Cl_b clorofila *b*

Co cobalto

Cu cobre

DAT dias após o transplante

Et etileno

EUN Eficiência do uso de nitrogênio

Fe ferro

FI força iônica

Mo molibdênio

UFSCar Universidade Federal de São Carlos

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 15 |
| 3. OBJETIVOS E HIPÓTESE | 20 |
| 4. TESTES PRELIMINARES | 21 |
| 4.1 MATERIAIS E MÉTODOS | 21 |
| 4.1.1 Implantação Experimental | 21 |
| 4.1.2 Crescimento Vegetal de Análises de Crescimento | 24 |
| 4.1.3 Pigmentos Fotossintetizantes | 24 |
| 4.1.4 Análise Estatística | 25 |
| 4.2 RESULTADOS | 25 |
| 4.3 DIFICULDADES ENCONTRADAS E AJUSTES METODOLÓGICOS | 28 |
| 4.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE NOSSO TESTE PILOTO | 29 |
| 5. EXPERIMENTO DEFINITIVO | 30 |
| 5.1 MATERIAIS E MÉTODOS | 30 |
| 5.1.1 Material Vegetal e Procedimento Experimental | 30 |
| 5.1.2 Tratamentos | 31 |
| 5.1.3 Crescimento Vegetativo e Coleta Destrutiva | 33 |
| 5.1.4. Pigmentos Fotossintetizantes | 34 |
| 5.1.5 Delineamento Estatístico | 36 |
| 5.2 RESULTADOS | 37 |
| 5.2.1 Crescimento Vegetal e Análises de Crescimento | 37 |
| 5.2.2 Pigmentos Fotossintéticos | 40 |
| 5.3 DISCUSSÃO | 43 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 45 |
| 7. REFERÊNCIAS | 46 |

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro [*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener] *in natura* e seus derivados são fontes de alcalóides, flavonóides e carotenóides benéficos para a saúde humana, além de apresentar propriedades ansiolíticas, sedativas, analgésicas e anti-hipertensivas, o que torna essa espécie vegetal uma alternativa econômica para pequenos agricultores (SILVA et al. 2014; OLUOCH et al. 2018; SOUZA et al. 2018). O preço da fruta de maracujazeiro *in natura* dependerá de sua classificação comercial com variações de preço entre R\$2,00 a R\$3,60 o quilo da fruta (CEAGESP, 2020).

O Brasil se destaca como o maior produtor e consumidor mundial de maracujazeiro. Em 2018 nosso país produziu 602.651 toneladas cultivadas em 42.731 hectares (média de 14,10 toneladas por ha), dos quais 62% da produção está localizada na Região Nordeste, com o estado da Bahia responsável por 26,7% da produção nacional (IBGE, 2019). Pomares comerciais com alta produtividade e rentabilidade econômica advêm do uso de mudas com excelente vigor e nutricionalmente equilibradas (SOUSA et al. 2011).

De maneira geral, é crucial às plantas aclimatar-se às constantes mudanças ambientais, por exemplo, restrição à nitrogênio (N) e/ou privação deste elemento no solo (WANG et al. 2015). A literatura relata que o amônio (NH_4^+) e o nitrato (NO_3^-) são as principais formas de N absorvidas pelas plantas (YIN et al. 2014). As espécies vegetais possuem diferentes taxas de absorção de NH_4^+ ao longo do desenvolvimento, entretanto é pouco compreendido e documentado seus efeitos fisiológicos em estádios fenológicos iniciais após a emergência. Nos estádios fenológicos iniciais do crescimento a literatura reporta que NH_4^+ e NO_3^- são fontes essenciais de N para absorção das plantas a partir um grande número de investigações científicas com metodologias de cultivo sem solo (ESTRADA et al. 2017; LIU et al. 2017; HUANG et al. 2018).

De acordo com Zeng e colaboradores (ZENG et al. 2014), plantas cultivadas em solução nutritiva com menor disponibilidade de N apresentam menores concentrações de clorofila total, uma vez que esse elemento é parte integrante dos pigmentos fotossintéticos, a Ribulose 1,5-Bisfosfato Carboxilase/Oxigenase (RuBisCO) (ZAMBONI et al. 2016; ESTRADA et al. 2017). Além disso, não existe uma única solução nutritiva comum a todas as espécies de plantas e/ou estádios fenológicos (WORTMAN 2015; FERNÁNDEZ-ESCOBAR et al. 2016; PEÇANHA et al. 2017).

O molibdênio (Mo) é considerado um elemento mineral essencial para o metabolismo vegetal em plantas superiores. A aplicação, via foliar, em plantas jovens de morango (*Fragaria x ananassa* Duch. cv. *Akihime*), proporcionou maior absorção e transporte de NO_3^- pelas raízes,

umentando o uso eficiente de N pelo vegetal (LIU et al. 2017). Além disso, o Mo promove a catálise enzimática de uma série de reações bioquímicas, por exemplo, síntese de hormônios vegetais, desintoxicação de sulfitos (KAISER et al. 2005; BOUZID e RAHMOUNE 2012; HIPPLER et al. 2017) e transporte de compostos nitrogenados essenciais em organismos eucarióticos, uma vez que as molibdenoenzimas se ligam ao metabólito especializado Pterina ($C_6H_5N_5O$) para formar o “cofator Mo”, o qual é constituinte das enzimas xantina desidrogenase, aldeído oxidase, sulfito oxidase e nitrato redutase (TOMATSU et al. 2007; HÄNSCH e MENDEL 2009; KOVÁCS et al. 2015; CHATTERJEE e BANDYOPADHYAY 2017).

O cobalto (Co) é considerado um elemento mineral benéfico para as plantas, entretanto, investigações científicas apontam que a presença deste elemento causa danos irreversíveis nos genótipos de cevada (*Hordeum vulgare* L.), como redução na divisão celular, descoloração de nervuras, abscisão foliar (LANGE et al. 2017; LWALABA et al. 2017; SHAHID et al. 2017), translocação anormal de nutrientes à folha e distúrbios da integridade dos cloroplastos e das enzimas ferro-porfirina (CHATTERJEE e CHATTERJEE 2003; GUO et al. 2017). Esse metal pesado, comparado a outros metais, tem sido menos explorado em relação a outros metais pesados quanto aos seus efeitos benéficos em plantas. Além disso, o Co também influencia na biossíntese hormonal e na absorção de N durante a fixação simbiótica promovidas por rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), por ser uma parte estrutural da síntese da legemoglobina, que determina a atividade dos nódulos nas raízes de soja [*Glycine Max* (L.) Merrill] (MARCONDES; CAIRES, 2005; LEENU; SHEELA, 2016).

No presente estudo nosso objetivo foi avaliar a aplicação foliar de elementos minerais molibdênio (Mo) e cobalto (Co) em plantas jovens de maracujazeiro (*P. edulis*) cultivadas em diferentes disponibilidades de N obtidas da fonte mineral nitrato (NO_3^-) com ausência da fonte mineral amônio (NH_4^+). Dessa forma, nossa hipótese testou a existência de benefícios entre Mo e Co, via foliar, sob diferentes disponibilidades de nitrogênio (N), de uma única fonte de N (nitríca) no balanço nutricional durante a formação de uma planta jovem.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Para a produção de mudas de maracujazeiro de qualidade, um dos principais atributos agronômicos é o fornecimento adequado de elementos minerais essenciais em fase de viveiro (PACHECO et al. 2017). Um dos critérios empregados para caracterizar se um elemento

mineral é essencial é que o mesmo seja indispensável para o vegetal completar totalmente seu ciclo de vida (COLE, 2016; BANG et al. 2017; WANG et al. 2017).

Tradicionalmente, há uma vasta quantidade de publicações científicas que conceituam os elementos minerais essenciais em categorias intituladas “macronutrientes” e “micronutrientes”. Além disso, outra categoria de ação dos elementos minerais é conhecida como “elementos benéficos”, contudo esta descreve a existência de elementos minerais não necessários para o vegetal completar o ciclo de vida, contudo, estes exercem ação fisiológica benéfica em plantas superiores, por exemplo, estímulo do crescimento vegetativo/reprodutivo (PILON-SMITS et al. 2009; FERREIRA, 2017).

O fornecimento de elementos minerais, via foliar, é comumente utilizada na produção agrícola em diversas culturas, por exemplo, como na cultura da romã (*Punica granatum* L.) e da uva (*Vitis vinífera* L.), pois esta estratégia é amplamente utilizada para corrigir deficiências de elementos minerais essenciais por meio de aplicações direcionadas de fertilizantes com maior efetividade, pois, proporciona maior absorção e mobilidade de determinado nutriente no tecido vegetal (WILLIAMS et al. 2005; CHATER; GARNER, 2018).

Os elementos não minerais carbono (C), hidrogênio (H) e oxigênio (O) e os elementos minerais nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) são essenciais e requeridos em grandes quantidades pelas plantas (> 0,1% de massa seca) e, por conta disso, são denominados macronutrientes (MAATHUIS, 2009; BANG et al., 2017). Já os elementos minerais boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), cloro (Cl), níquel (Ni), zinco (Zn) e molibdênio (Mo) são também essenciais e requeridos em menores concentrações, de 200 a 400 $\mu\text{g g}^{-1}$ de massa seca, portanto, são considerados micronutrientes (HANSCH; MENDEL, 2009; ROUSSOS, 2017). A literatura reporta, ainda, que o cultivo hidropônico, a partir do uso de soluções nutritivas, é uma excelente ferramenta para investigação hortícola e produção de vegetais (WORTMAN, 2015; FERNÁNDEZ-ESCOBAR et al. 2016; PEÇANHA et al. 2017; WEI, et al. 2018), a qual possibilita a manipulação dos níveis de nutrientes disponibilizados para as plantas, apresentando resultados mais precisos que aqueles obtidos em cultivo via solo e menores custos em termos de análises químicas. Ao longo da história, a composição da solução nutritiva tem sido estudada, com relatos desde 1865, por exemplo, a solução de W. Knopp. Somente a partir de 1933 a solução nutritiva foi constituída contendo micronutrientes [KNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KH_2PO_4 e MgSO_4].

De maneira geral, para que seja analisado os efeitos de um determinado nutriente sem apresentar interferência do solo, faz-se o uso de soluções nutritivas constituída pelos macro e micronutrientes necessários para o desenvolvimento e crescimento vegetal (BARON et al.,

2013), em que uma das primeiras propostas da era contemporânea foi elaborada pelos pesquisadores Denis Robert Hoagland e Daniel Israel Arnon, na Estação Experimental de Berkeley, Califórnia (EUA), a partir do boletim técnico intitulado ‘*The water culture method for growing plants without soils*’, publicado em 1950 (HOAGLAND; ARNON, 1950). Os pesquisadores Hoagland e Arnon apresentaram uma solução nutritiva completa e balanceada para a cultura do tomate, baseada na composição de plantas cultivadas em vasos com solução nutritiva no ano de 1938. A partir de 1950 a solução nutritiva proposta por Hoagland & Arnon sofreu adaptações na proporção $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ para uma relação direta de 7:1 necessária para a osmorregulação e equilíbrio iônico celular, ou seja, foi adicionada pelos autores uma fonte adicional de N na forma amoniacal (NH_4^+) (COMETTI et al., 2006).

Nair e colaboradores (2012) reportam que plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) expostas a concentrações variáveis de Co (1x, 10x, 50x, 100x, 500x, 1000x a recomendação ideal para as plantas) em solução nutritiva demonstraram que estas plantas acumulavam até cinco vezes mais este elemento mineral que as plantas controle, tanto em raízes como as partes aéreas das plantas, embora o acúmulo nas raízes tenha sido muito maior do que as brotações, demonstrando que plantas transgênicas de tabaco podem ser utilizadas para a fitoestabilização em áreas contaminadas.

De acordo com a literatura, o N é um fator limitante para o desenvolvimento e desempenho das plantas, em que o N é absorvido pelas raízes, preferencialmente, nas formas inorgânicas NO_3^- e NH_4^+ , entretanto, se disponível apenas uma destas fontes os vegetais apresentam inibição do seu crescimento, como o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) e tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (RAHAYU, 2005; LIU et al., 2017). Estudos publicados por ZENG et al. (2014) reportam que plantas cultivadas em solução nutritiva com menor disponibilidade de nitrato (NO_3^-) apresentam menores concentrações de clorofila total, haja vista que o N é parte integrante dos principais componentes do sistema fotossintético, tais como, clorofilas e da RuBisCO, além de promover alterações morfológicas como crescimento, produção vegetativa e produtividade biológica de vegetais (ZAMBONI, 2016; ESTRADA et al. 2017).

Geralmente, as plantas preferem o NH_4^+ como a principal fonte de nitrogênio (N), pois a absorção de N de NH_4^+ é mais rápida que a de NO_3^- , a partir da observação de padrão de expressão mais eficiente das proteínas transportadoras de NH_4^+ em comparação com as proteínas transportadoras de NO_3^- (TANG et al. 2020). Concentrações de NH_4^+ são notavelmente mais altas em tecidos radiculares em comparação com o tratamento contendo a fonte NO_3^- , ao passo que as plantas apresentam uma concentração equilibrada entre NO_3^- e

NH_4^+ em tecido foliar (RUAN et al. 2016). Embora se saiba que existe variabilidade genética na absorção máxima de N pelas plantas, a base fisiológica e genética subjacente a essa variabilidade é pouco elucidada (BROADLEY et al. 2012). O N é absorvido pelas raízes nas formas NO_3^- e NH_4^+ por sistemas de transporte de alta e baixa afinidade, respectivamente. A regulação da absorção de NO_3^- implica a indução de alta capacidade, aumentando as concentrações internas de NO_3^- (VAN BEUSICHEM et al. 1988; KROUK et al. 2006).

De acordo com pesquisas anteriores sobre a manipulação dos níveis de nutrientes e o diagnóstico de toxicidade por deficiência de elementos minerais, o N é um fator de crescimento bem conhecido que responde por uma curva de produção de matéria seca em função do suprimento de nutrientes em três estádios (faixa de deficiência, faixa adequada e faixa de toxicidade) (RÖMHELD 2012). O uso da técnica de cultivo sem solo é uma excelente ferramenta para auxiliar na manipulação da disponibilidade de nutrientes utilizados nas culturas de raízes fornecidas via raiz e para determinar a eficiência do uso de nitrogênio (FAGERIA e BALIGAR 2008).

A eficiência do uso de nitrogênio (EUN) em Eudicotiledôneas diminuiu durante seu no estádio inicial de desenvolvimento vegetativo (HAILE et al. 2012). Além disso, as espécies que diferiram no uso de N mostram plasticidade diferente da planta em relação à fonte de N durante o estádio fenológico do crescimento. As espécies vegetais pertencentes à família botânica Fabaceae (antiga Leguminosae) preferiram o NO_3^- durante todo o seu crescimento, enquanto espécies pertencentes à família Poaceae (Graminae) preferiram o NH_4^+ nos estádios iniciais, mas mudaram a preferência pelo NO_3^- mais tarde (CUI et al. 2017). Maior plasticidade pode favorecer esta espécie para mitigar o estresse por deficiência de N.

O metabolismo do Mo também está intimamente ligado ao metabolismo do ferro (Fe) e cobre (Cu) (BROADLEY et al. 2012). Enzimas que participam da primeira etapa do metabolismo do Mo como co-fator possuem um grupo Fe-S, da mesma forma que o Cu é essencial na formação intermediária de co-fatores. Na redução do nitrato para o nitrito, os elétrons do Mo são transferidos para o nitrato, assim, a deficiência de Mo causa deficiência de N no vegetal, ocasionando encurtamento dos entrenós e clorose das folhas totalmente expandidas (ZHANG, 2011; MENDEL; KRUSE, 2012).

O elemento mineral molibdênio (Mo) é responsável pela catalisação de diversas reações, como por exemplo a desintoxicação de sulfito e a síntese de hormônios vegetais (KAISER et al. 2005; BOUZID; RAHMOUNE, 2012; HIPPLER et al. 2017), além de participar do metabolismo do nitrogênio (N), promovendo a fixação, redução de nitratos e transporte de compostos nitrogenados, essenciais para procariotos e eucariotos, já que enzimas que requerem

Mo (molibdo-enzimas) ligam-se à Pterina ($C_6H_5N_5O$) formando o “cofator Mo” (TOMATSU et al. 2007; CHATTERJEE; BANDYOPADHYAY, 2015; KOVÁCS et al. 2015).

Hippler e colaboradores (2017) reportam que em laranjeira [*Citrus sinensis* (L.) *Osbeck* cv. *Valencia*] o fornecimento de Mo, via foliar, aumentou a concentração de N nas folhas, raízes e caule de acordo com a disponibilidade fornecida, de modo que plantas de laranjeira com alto suprimento de N apresentam maior absorção de Mo do que com menores disponibilidades de N e a aplicação de Mo via foliar aumenta a eficiência de assimilação e a utilização de NO_3^- aplicado, via fertirrigação, ou seja, o a maior disponibilidade N apresentou maior absorção de Mo e a aplicação deste elemento via foliar aumentou a concentração de N demonstrando que estes elementos minerais apresentam interrelação no metabolismo vegetal. Marschner (1995) descreve que as plantas podem apresentar estratégias distintas de crescimento, em que plantas silvestres adaptadas a solos pobres em nutrientes apresentam estratégia “tipo I” (crescimento vegetal lento), ao passo que organismos vegetais geneticamente modificados são caracterizados pela menor eficiência na aquisição de nutrientes (maior valor na constante de Michaelis-Menten), sendo estas do “tipo II” (crescimento vegetal rápido).

Já Fullin e colaboradores (FULLIN et al. 1999) reportaram que o fornecimento de Mo pode ser aplicado através do tratamento de sementes, solo ou mesmo via foliar em plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) reportaram maior produtividade de grãos. Possivelmente, existam proteínas carreadoras (absorção) específicas de membranas em células vegetais foliares para este elemento, uma vez que em plantas de uva (*Vitis vinifera* L.) a aplicação de Mo, via foliar, foi rapidamente distribuída pelos tecidos vegetais de caule e raízes em 24 horas (WILLIAMS et al. 2005). Proteínas integrais de membranas plasmáticas medeiam o transporte de Mo pertence às famílias gênicas *MOT1* e *MOT2*, e são caracterizados pela alta afinidade pelo substrato MoO_4^{2-} . Nas folhas, as proteínas *MOT1* são envolvidas na absorção de Mo e exportação de molibdato do vacúolo (MANUEL et al. 2018).

O cobalto (Co) é considerado elemento químico benéfico para as plantas e utilizado como cofatores de várias enzimas e proteínas, contudo, se a quantidade deste elemento for excedida acarreta prejuízos irreversíveis nos vegetais, como danos às células vegetais, resultando na redução do crescimento da planta, declínio na produtividade e qualidade das culturas (LWALABA et al. 2017). Esse elemento em comparação a outros metais têm sido menos explorado em estudos de fisiologia de plantas, no entanto, ao ser aplicado em quantidades elevadas em solução nutritiva acarretou efeitos tóxicos, tais como, redução na divisão celular, descoloração de nervuras, abscisão foliar (LANGE et al., 2017; SHAHID et al. 2017), translocação anormal de nutrientes da raiz até a folha, distúrbios na integridade do

cloroplasto e enzimas ferro-porfirinas (CHATTERJEE; CHATTERJEE, 2003; LEENU; SHEELA, 2016).

Em nossa revisão bibliográfica reportamos estudos que investigam as respostas fisiológicas dos elementos benéficos como o Co (LI et al. 2009; NAIR et al. 2012; BENYÓ, 2016). O efeito do Co na morfologia das plantas inclui, principalmente, o estímulo da abscisão foliar, inibição do esverdeamento foliar, descoloração das nervuras, manchas cloróticas, redução da massa seca da parte aérea e amarelecimento da folhagem, com posterior evolução a necrose (GÁL et al., 2008). O Co também interfere na biossíntese e indução hormonal com efeitos diretos no alongamento de hipocótilo em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.), e na indução da formação de raízes laterais em plantas de pepino e tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e em espécie monocotiledônea, por exemplo, plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) (GROVER; PURVES, 1976; LANGE et al. 2016). A aplicação de Co inibe a síntese do hormônio vegetal etileno (Et), sendo este inibidor do crescimento radicular e indutor na síntese da enzima heme-oxidase, o qual mimetiza o efeito da auxina (Ax) na formação das raízes (GAD; ATTA-ALY, 2006; ZHANG et al. 2011). Assim, é imprescindível o conhecimento da distribuição do sistema radicular, pois a densidade e a profundidade das raízes permitem a determinação da lâmina necessária da irrigação e distribuição de fertilizantes adequados, reduzindo assim perdas e aumentando a eficiência da aplicação (SOUSA et al. 2002; FERNANDES et al. 2005).

Elementos químicos como o Co promovem o crescimento vegetal e podem ser essenciais para os táxons específicos, porém não são exigidos por todas as espécies vegetais, sendo assim denominados de elementos benéficos. As funções benéficas desse elemento referem-se ao fortalecimento das paredes celulares por depósitos de sílica, ou expressas em condições ambientais específicas, como ataque de patógenos e estresse osmótico por sódio. Deste modo, a definição de elementos benéficos não é, portanto, limitada às suas naturezas químicas, entretanto, também deverá se referir a outros contextos como os efeitos positivos sobre o crescimento das plantas e a resposta ao estresse (JARDIN, 2015).

3. OBJETIVOS E HIPÓTESE

Abaixo são apresentadas as hipóteses de nulidade (H₀).

Espera-se que H₀ seja falsa, considerando-se verdadeira a hipótese alternativa (H₁), na qual se verifica efeito significativo (H₁):

(H₀) Os elementos minerais Mo e Co (essencial e benéfico, respectivamente), via foliar, não interferem no conteúdo de pigmentos fotossintetizantes (clorofilas e carotenóides).

(H0) A aplicação dos elementos minerais molibdênio (Mo) e cobalto (Co), via foliar, em diferentes disponibilidades do elemento mineral nitrogênio (N) não interferem no crescimento vegetal;

Caso rejeitada a hipótese de nulidade, nossa hipótese alternativa (H1) será que a interação entre os elementos minerais Mo e Co e a disponibilidade de N foram significativas entre si, responsáveis por atenuar o estresse por deficiência de NO_3^- e privação de NH_4^+ durante o estabelecimento vegetal em viveiro.

4. TESTES PRELIMINARES

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1 Implantação experimental

Os testes preliminares (“testes-piloto”) foram instalados em cultivo protegido pertencente à área experimental da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) campus Lagoa do Sino, município de Buri/SP, situado a 596 metros de altitude e com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 23°47'57" Sul, Longitude: 48°35'15" Oeste. O cultivo protegido foi composto por estrutura metálica do tipo arco, coberta com filme plástico agrícola de polietileno transparente (PEBD, anti-UV) com 150 μm , pé-direito de 3 metros, construída respeitando o sentido leste-oeste, com sombrite laminado *Aluminet* (Polysack®) apoiado sob o teto, permitindo a passagem de intensidade luminosa, oscilando de 0 a 1200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (DFFFA, densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos), no período compreendido entre 07h às 18h (período outono-inverno-primavera).

As plantas utilizadas nos testes-piloto foram obtidas a partir do material reprodutivo (frutos) coletados de plantas adultas obtidas no município de Piraju/SP, localizado a 130 km de distância do campus Lagoa do Sino. Após coletados os frutos, os mesmos foram despulpados manualmente com o auxílio de peneira e água corrente, a fim de não danificar o tegumento das sementes. Após sua lavagem, as sementes foram mantidas em bancada para secagem.

As sementes foram pesadas e submetidas a tratamento fitossanitário com o fungicida (ingrediente ativo, i.a., Fludioxonil, com 2mL do produto comercial por kg^{-1} de semente) e inseticida com i.a. Imidacloprido e i.a. Tiodicarbo, com 5mL do produto comercial por kg^{-1} de semente). O período de desinfestação foi de 15 minutos de imersão das sementes, conforme recomendação e especificação do fabricante (Syngenta Crop Protection AG®).

Após o tratamento fitossanitário as sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno preenchidas com substrato comercial vermiculita de textura média e mantidas em cultivo protegido (tela sombrite 50% de luminosidade) até o momento que as mesmas apresentaram o primeiro par de folhas completamente expandidas acima do terceiro nó do epicótilo (terceiro nó do nomófilo). A partir deste estágio fenológico rotulamos as plantas emergidas/plântulas por 'plantas jovens' jovens (mudas) e, a partir deste estágio fenológico, as mudas foram transplantadas para sacolas com capacidade volumétrica de 500 cm³. Após o transplante, as plantas foram mantidas por 10 dias na câmara de crescimento com temperatura controlada de 25 a 30°C e fotoperíodo de 12 horas, na sequência, as mudas foram cultivadas em ambiente protegido (casa-de-vegetação) para aclimação das mesmas, a fim de se amenizar a diferença entre as condições da câmara e as condições a campo. Por fim, utilizamos 12 repetições de 1 planta cada, transplantadas para containers (garrafas tipo pet), com furos ao fundo e lateralmente (evitar o acúmulo de água) com volume individual de 2.000 cm³ também preenchidas com substrato vermiculita de textura média (Figura 1).

Figura 1. Implantação e condução de experimento preliminar de plantas de maracujazeiro cultivadas em substrato vermiculita com aplicação, via radicular, de solução nutritiva completa Hoagland e Arnon 1950 (nº01 e nº2).



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

Após o período de aclimação das plantas jovens pós-transplante (15 dias após o transplante), aplicamos a solução nutritiva, via radicular em substrato vermiculita, com volume de 100 ml por planta de Hoagland e Arnold nº2 a 100% de F.I. para a manutenção basal do

metabolismo vegetativo. A condutividade elétrica (C.E.) da solução nutritiva foi controlada com a utilização de um condutivímetro, mantida entre $2.0 \pm 0.02 \text{ mS cm}^{-1}$, de acordo com a metodologia descrita por Baron e colaboradores (BARON et al. 2013).

Quanto a aplicação dos elementos minerais cobalto (Co) e molibdênio (Mo), via foliar, utilizamos soluções stock, a partir de reagentes puros para análise (P.A.), tais como o molibdato de sódio (MoNa_2O_4) ($205,92 \text{ g.mol}^{-1}$) (SIGMA-ALDRICH, 2017a) com volume de 4000 ppm ($4,0 \text{ mL.L}^{-1}$), (FARHANGI-ABRIZ et al., 2017) e sulfato de cobalto (II) hepta-hidratado ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ($281,10 \text{ g.mol}^{-1}$) (SIGMA-ALDRICH, 2017b) em solução aquosa, com concentração de 300 ppm ($0,3 \text{ mL.L}^{-1}$), diluído em água destilada (WAHDAN, 2011; MANSOUR; MUBARAK, 2014; SARMA et al., 2014) (Figura 2).

Figura 2. Soluções estoques da solução nutritiva nº1 com diferentes disponibilidades de N (A); Soluções estoques referentes a aplicação foliar (B).



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

Segue abaixo o rol de tratamentos aplicados:

Tratamento 1 → Hoagland; Arnon nº2 a 100% de de disponibilidade de N

Tratamento 2 → Hoagland; Arnon nº1 a 50% de disponibilidade de N + MoCo

Tratamento 3 → Hoagland; Arnon nº1 a 100% de disponibilidade de N

Tratamento 4 → Hoagland; Arnon nº2 a 100% de de disponibilidade de N + MoCo

A aplicação foliar de sulfato de cobalto (II) hepta-hidratado e molibdato de sódio foi realizada direcionando-se o jato da calda de aplicação em toda parte aérea do vegetal, com auxílio de pulverizador costal dotado de cilindro de CO_2 (Figura 3) e aferição manométrica da pressão através de uma ponta do tipo leque simples (modelo AD/T 110 02) com tamanho de gotas recomendado pelo fabricante (MagnoJet®) (CONTIERO, FRANCISCHINI; SANTOS et al., 2012).

Figura 3. Pulverizador costal dotado de cilindro de CO₂ e aferição manométrica da pressão através de uma ponta do tipo leque simples (modelo AD/T 110 02).



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

4.1.2 Crescimento vegetal de análises de crescimento

As medidas de crescimento foram realizadas ao longo dos 90 dias após o transplante (DAT), seguindo-se as recomendações de medidas de crescimento publicadas por Benincasa (2003) em seu manual de análise de crescimento de plantas.

4.1.3 Pigmentos fotossintetizantes

A quantificação de clorofilas (*a* e *b*) foi realizada de acordo com a metodologia escrita por Sims; Gamon (2002). Em um almofariz foram colocadas entre 0,020 a 0,050 g de folhas frescas congeladas, as quais foram pulverizadas previamente em nitrogênio líquido. Esse material foi homogeneizado em 4 mL de solução de acetona/tampão Tris-HCl (80:20, v/v, pH 7,8, 0,2M). A suspensão resultante foi transferida para tubos de centrifuga (capacidade volumétrica de 1,5 mL) e mantidos em freezer a -20°C por 1 hora. Logo após, as amostras foram centrifugadas a 10000 x g durante 5 minutos a 4°C. Para as leituras do espectrofotômetro, foram utilizados 1500µL do sobrenadante + 1500µL de solução de acetona/tampão Tris-HCl utilizando-se 663nm, 647nm, 537nm e 470nm. A concentração de clorofilas *a* e *b* e carotenoides foram calculadas segundo as equações e expressos em µg de pigmento por g de matéria fresca:

$$\text{Clorofila } a = 0,01373. (A663) - 0,000897. (A537) - 0,003046. (A647);$$

$$\text{Clorofila } b = 0,02405. (A647) - 0,004305. (A537) + 0,005507. (A663);$$

Antocianina = $0,08173 \cdot (A537) - 0,00697 \cdot (A647) - 0,002228 \cdot (A663)$;

Carotenóide = $[A470 - (17,1 \cdot (Cl_a - Cl_b) - 9,479 \cdot (Antocianina))] / 119,26$.

4.1.4 Análise estatística

Os dados foram inicialmente analisados com o uso da estatística descritiva, a partir de medidas de resumo (tendência central e dispersão) e gráficos (diagrama de dispersão, diagramas de caixas, etc.) para o estudo das distribuições das variáveis. Os efeitos de tratamento foram acessados por meio da análise de variância (ANOVA) para experimentos aleatorizados em blocos, enquanto os grupos experimentais foram comparados por meio do teste de Tukey. As pressuposições de homogeneidade de variâncias e normalidade dos dados foram testadas a partir dos testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente. As análises estatísticas foram conduzidas por meio do software R (R Core Team, 2019). Todos os testes foram realizados considerando-se o nível de significância $\alpha = 0,05$.

4.2 RESULTADOS

Conforme descrito na Tabela 1, observamos o efeito do tempo sobre as dimensões lineares do crescimento vegetativo ($p < 0,05$). Este efeito é relativo ao incremento de biomassa, ao longo do tempo. Além disso, houve efeito significativo dos tratamentos para as variáveis “comprimento de caule”, “área foliar”, “altura de planta” e “número de folhas” ($p < 0,05$). Contudo, não houve interação entre tratamentos e o momento da coleta (tempo), indicando-nos que os efeitos dos tratamentos são consistentes ao longo do tempo ($p \geq 0,05$). Quanto aos dados de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, e carotenoides) reportamos que os dados não diferiram entre os diferentes tratamentos (Tabela 2).

Tabela 1. Análise de variância (ANOVA) dos dados lineares de crescimento nos tempos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 DAT para as variáveis diâmetro de caule, comprimento de caule, área foliar, altura de planta, número de folhas de plantas de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) ($n=12$) cultivadas sob aplicação, via foliar de cobalto e molibdênio, e via radicular de Hoagland; Arnon (1950) n°01.

| Fatores | diâmetro de caule | | | comprimento de caule | | | área foliar | | | altura de planta | | | número de folhas | | |
|-------------------|-------------------|--------|----------|----------------------|--------|---------|-------------|--------|---------|------------------|--------|--------|------------------|--------|----------|
| | GL | QM | F | GL | QM | F | GL | QM | F | GL | QM | F | GL | QM | F |
| Bloco | 2 | 0,3329 | 2,38 | 2 | 252,30 | 6,29** | 2 | 0,009 | 3,16 | 2 | 462,15 | 7,83** | 2 | 4,08 | 2,29 |
| Tempo | 5 | 6,6317 | 47,53*** | 5 | 216,24 | 5,39*** | 5 | 0,027 | 9,24*** | 5 | 287,29 | 4,87** | 5 | 44,70 | 25,04*** |
| Trat | 3 | 0,2543 | 1,82 | 3 | 210,20 | 5,24** | 3 | 0,023 | 7,90*** | 3 | 374,91 | 6,35** | 3 | 19,522 | 10,94*** |
| Tempo:Trat | 15 | 0,1698 | 1,22 | 15 | 16,22 | 0,40 | 15 | 0,002 | 0,81 | 15 | 22,02 | 0,37 | 15 | 2,035 | 1,14 |
| Resíduo | 42 | 0,1395 | - | 45 | 40,10 | - | 40 | 0,0029 | - | 44 | 59,04 | - | 41 | 1,785 | - |

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; F = Estatística F de Fisher; ** = significância a 0,01; *** = significância a 0,001.

Tabela 2. Análise de variância (ANOVA) dos pigmentos fotossintéticos de plantas de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) cultivadas sob aplicação, via foliar, de cobalto e molibdênio e, via radicular, de Hoagland & Arnon (1950) n°01 e n°02.

| Trat. | clorofila a (ug/g de matéria fresca) | clorofila b (ug/g de matéria fresca) | carotenoides (ug/g de matéria fresca) |
|------------------|---|---|--|
| T1 | 238,680 ± 34,572a | 89,563 ± 2,571a | 65,923 ± 39,682a |
| T2 | 278,603 ± 25,399a | 109,070 ± 11,361a | 79,766 ± 46,280a |
| T3 | 218,536 ± 110,542a | 76,773 ± 110,542a | 97,380 ± 3,040a |
| T4 | 209,206 ± 38,438a | 93,003 ± 38,438a | 86,413 ± 29,047a |
| Valor F | 0,14 | 0,16 | 0,10 |
| Pr > F | 0,93 | 0,91 | 0,95 |

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste Tukey a 5% probabilidade (\pm erro padrão, $n=3$).

Tabela 3. Comparação de médias para as variáveis para as análises lineares de crescimento de plantas de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) cultivadas sob aplicação via foliar de cobalto e molibdênio e via radicular de Hoagland & Arnon (1950) n°01.

| Trat. | diâmetro de caule (mm) | comprimento de caule (cm) | área foliar (dm²) | altura de planta (cm) | número de folhas (unit.) |
|--------------|-----------------------------------|--------------------------------------|---|----------------------------------|-------------------------------------|
| T1 | 4,166 ± 0,088a | 20,305 ± 1,492a | 0,227 ± 0,012 a | 30,588 ± 1,811a | 6,111 ± 0,315 a |
| T2 | 4,387 ± 0,088a | 16,850 ± 1,492a | 0,169 ± 0,013 b | 25,056 ± 1,888a | 4,222 ± 0,315 b |
| T3 | 4,166 ± 0,091a | 14,753 ± 1,556a | 0,174 ± 0,013 b | 23,401 ± 1,888a | 5,967 ± 0,328 a |
| T4 | 4,128 ± 0,099a | 12,172 ± 1,492a | 0,250 ± 0,015 a | 19,561 ± 1,811a | 3,986 ± 0,372 b |

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste Tukey a 5% probabilidade (\pm erro padrão, $n=3$).

4.3 DIFICULDADES ENCONTRADAS E AJUSTES METODOLÓGICOS

Apresentamos, na sequência, as dificuldades técnicas pontuais que enfrentamos para a instalação/condução experimental e as respectivas superações metodológicas (ajustes) providenciados/realizados.

Situação I. Em nosso teste preliminar, verificamos que as plantas após a aplicação dos tratamentos apresentaram amarelecimento das folhas e logo após a abscisão destas (Figura 4).

Situação II. Constatamos, durante a atualização da revisão bibliográfica, enorme dificuldade em encontrar artigos científicos (*papers*) que descrevem a aplicação dos elementos minerais Mo e Co, via foliar, em plantas jovens de maracujazeiro, ou seja, poucos artigos demonstram tais resultados.

Situação III. Durante os testes preliminares iniciamos a germinação de sementes do experimento definitivo e encontramos dificuldades na mesma. As plantas, quando retiradas da câmara de germinação, não suportavam o novo ambiente (estufa metálica).

Figura 4. Plantas de maracujazeiro durante abscisão foliar e amarelecimento de folhas (A e B).



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

Ajustes metodológicos

Ao verificar a abscisão de folhas durante o teste-piloto, aumentamos o número de repetições para o experimento definitivo, sendo inicialmente proposto 60 repetições para 102

repetições no total. Inicialmente foi realizado a germinação das plântulas em câmara de germinação, e quando as mesmas foram inseridas em local em definitivo a plantas não toleraram o novo ambiente sem controle de temperatura e umidade, deste modo, optamos pela germinação em área experimental da Universidade Federal de São Carlos *campus* Lagoa do Sino com a utilização de um telado com 50% de sombreamento. Em relação ao local experimental, este também foi alterado em relação a proposta preliminar e, desta forma, realizamos o experimento definitivo com a utilização de tubetes em ambiente telado (Figura 7).

4.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE NOSSO TESTE PILOTO

Nossa análise de pigmentos fotossintéticos reportou que não houveram diferenças entre os diferentes tratamentos (disponibilidades de N e aplicação de Co/Mo). De acordo com Begović et al. (2016), na espécie vegetal *Lemna minor* L., o Co induz clorose em folhas após exposição de 0,1 mM de Co e prejuízos na atividade fotossintética a partir de alterações no transporte de elétrons através do PSII. Embora a enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD, E.C 1.15.1.1) seja um importante biomarcador do estresse oxidativo, os autores citados acima constataram que a SOD diminuiu em plantas tratadas com Co. Tal resposta fisiológica se deve ao aumento no fornecimento mineral de Co foi detectável já em dez minutos após o início da exposição, o que demonstra elevada taxa de acúmulo, ou seja, a quantidade de íons Co presentes provavelmente foi suficiente para reduzir a atividade da SOD nas plantas tratadas. Contudo, em concentrações mais baixas (0,01 mM de Co), houve elevação na produção de clorofilas e carotenoides, justificado pela associação à ausência de clorose. O Co afeta o metabolismo vegetal em diferentes formas, dependente diretamente de sua concentração. O efeito tóxico do Co ocorre pela inibição da atividade do PSII, alterando a enzima quinona e a exportação de fotoassimilados e fixação de CO₂ é reduzida (CHATZISTATHIS, 2018). Contudo, em nosso presente estudo todos os tratamentos apresentaram o mesmo padrão de resultados, ou seja, os pigmentos fotossintéticos não diferiram entre os diferentes tratamentos.

Nossa investigação revelou o efeito do tempo sobre algumas das variáveis lineares de crescimento em plantas de maracujazeiro, diâmetro de caule, comprimento de caule, área foliar, altura de planta e número de folhas (Tabela 1 e 3). Já para as variáveis comprimento de caule, área foliar, altura de planta e número de folhas houve interação significativa, não houve interação entre tratamentos e o momento da coleta (tempo), indicando-nos que os efeitos dos tratamentos são consistentes ao longo do tempo. Na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill], Li e colaboradores (Li et al. 2018) descrevem que o N é indispensável para os principais processos fisiológicos desta cultura e sua deficiência afeta atividades fisiológicas e metabólicas

desta cultura, tais como a inibição do aumento da área foliar, ou seja, inibição do desenvolvimento foliar como no presente estudo.

De acordo com a nossa análise de dados houve interação entre as variáveis comprimento de caule, área foliar, altura de planta e número de folhas, mesmo àqueles em que não foram aplicados Co e Mo via foliar. Guo e colaboradores (Guo et al. 2017) reportam que na cultura da lentilha (*Landoltia punctata* L.) sob cultivo hidropônico, a aplicação de cobalto (Co) e níquel (Ni) resultou em crescimento inicial satisfatório sob concentrações menores que $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, entretanto as plantas apresentam decréscimos em seu desenvolvimento após o sétimo dia de tratamento e, sob concentrações mais elevadas ($>5 \text{ mg.L}^{-1}$), o crescimento foi significativamente reduzido. Os autores citados acima apenas afirmam que tais efeitos morfofisiológicos são resultantes da fitotoxicidade destes metais nas membranas estruturais celulares e inibição de carreadores iônicos. De certa maneira, estudos desses efeitos em plantas superiores são escassos na literatura científica.

A aplicação de Mo e Co, via foliar, apresentou interação significativa com as diferentes disponibilidades de N (Tratamento 2) e com aplicação de solução nutritiva completa (Tratamento 4) nas variáveis comprimento de caule, área foliar, altura de planta e número de folhas. Estes resultados foram consistentes ao longo do tempo. Quanto aos resultados de pigmentos fotossintetizantes, os tratamentos não diferiram entre si com e sem a aplicação foliar de Mo e Co.

5. EXPERIMENTO DEFINITIVO

5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1.1 Material vegetal e procedimento experimental

Frutos maduros de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) (Figura 5) foram coletados de uma única planta matriz, despolpado manualmente com a ajuda de uma peneira e água corrente e após a lavagem, as sementes foram mantidas em uma bancada de secagem. As sementes foram submetidas ao tratamento fitossanitário realizado com 350 g L^{-1} do fungicida Certeza® [Dimetil 4,4'- (o-fenileno) bis (3-tioalofanato)], conforme especificado pelo fabricante. Após o tratamento fitossanitário, a semeadura foi realizada em bandejas de poliestireno preenchidas com substrato de vermiculita de textura média (Figura 6). Assim que as mudas apresentaram o primeiro par de folhas totalmente expandidas acima do terceiro nó do epicótilo ('terceiro nomófilo'), elas foram chamadas de plantas jovens e

transplantadas para tubos plásticos. O presente estudo foi realizado em uma área experimental pertencente ao campus “Lagoa do Sino” da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), município de Buri/SP, localizado a 596 metros de altitude e com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude (23° 47 '57" S) e longitude (48° 35'15"O).

Figura 5. Fruto de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro).



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

Figura 6. Bandejas de poliestireno semeada com sementes de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) preenchidas com o substrato vermiculita de textura média.



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

5.1.2 Tratamentos

Após o transplante, as mudas receberam solução nutritiva Hoagland; Arnon completa nº01 modificada (HOAGLAND; ARNON, 1950) com 10 mM de nitrogênio (N), para fornecer

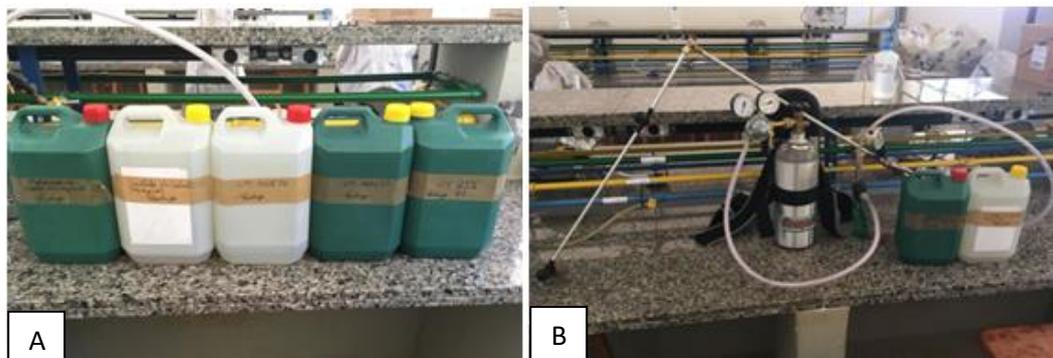
diferentes disponibilidades deste elemento, tais como 25% de N, 50% de N e 100% de N (Figura 7). A aplicação foliar de sulfato de cobalto (II) hepta-hidratado ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e molibdato de sódio ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) foi realizada após o transplante das mudas direcionando-se o jato da calda de aplicação à toda parte aérea, com auxílio de pulverizador costal dotado de cilindro de CO_2 e aferição manométrica da pressão através de uma ponta do tipo leque simples (modelo AD/T 110 02) com tamanho de gotas recomendado pelo fabricante (MagnoJet[®]) (Figura 8) (CONTIERO et al., 2012). Os tratamentos empregados foram: T1 – 25% de N; T2 – 50% de N; T3 – 100% de N; T4 – 25% de N + Co/Mo via foliar; T5 – 50% de N + Co/Mo via foliar; T6 – 100% de N + Co/Mo via foliar.

Figura 7. Plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) em tubetes mantidos em ambiente telado.



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

Figura 8. Soluções estoques utilizadas para a condução do experimento. Soluções estoques (A); Pulverizador costal dotado de manômetro de pressão e soluções estoques de Mo + Co (B).



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

Tabela 4. Solução nutritiva de Hoagland e Arnon nº1 (ausência de fonte de amônio, NH_4^+) contendo macronutrientes, com diferentes concentrações de nitrogênio, micronutrientes e solução de ferro-EDTA.

| Macronutrientes | Solução estoque (M) | 25% de N (mL.L ⁻¹) | 50% de N (mL.L ⁻¹) | 100% de N (mL.L ⁻¹) |
|--|--------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| KH_2PO_4 | 136.08 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| KNO_3 | 101.10 | 1.25 | 2.50 | 5.00 |
| $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | 236.16 | 1.25 | 2.50 | 5.00 |
| $\text{Mg}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 246.50 | 2.00 | 2.00 | 2.00 |
| (0,5M) K_2SO_4 | 087.13 | 3.77 | 2.50 | 0.00 |
| (0.01M) CaSO_4 | 001.36 | 300.00 | 200.00 | 000.00 |
| Micronutrientes | Solução estoque (g.L ⁻¹) | 25% de N (mL.L ⁻¹) | 50% de N (mL.L ⁻¹) | 100% de N (mL.L ⁻¹) |
| H_3BO_3 | 2.86 | | | |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 1.81 | | | |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 0.22 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 0.08 | | | |
| $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0.02 | | | |
| Solução de Ferro-EDTA* | Solução estoque (g.L ⁻¹) | 25% de N (mL.L ⁻¹) | 50% de N (mL.L ⁻¹) | 100% de N (mL.L ⁻¹) |
| EDTA Bissódico ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) | 26.10 | | | |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 24.90 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |

*Solução catalizada com 265.00 mL NaOH (M)

5.1.3 Crescimento vegetativo e coleta destrutiva

As medidas do crescimento vegetal foram coletadas ao longo de 120 dias após o transplante (DAT), adotando-se protocolo metodológico publicado por Benincasa (2003) em seu manual de análise de crescimento de plantas (Figura 9). Aos 120 DAT, as plantas jovens foram divididas em limbo foliar e caule + pecíolo, compondo assim a chamada parte aérea. Além disso, foram separadas a raiz principal + raiz secundária, compondo assim a chamada parte radicular. A partir da separação organográfica do vegetal em folha, caule e raiz, foram realizadas a secagem destas estruturas em estufa com circulação forçada de ar ($65^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$) por 72h até obtenção de massa de matéria seca constante (gramas) (Figura 10) e mensuradas com auxílio de balança analítica com sensibilidade de 0,001g.

Figura 9. Medições de crescimento vegetal de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) com utilização de régua graduada.



Crédito pela imagem: L.C.C. Silva

Figura 10. Estufa com circulação de ar forçada com material vegetal de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) para obtenção da massa de matéria seca.



Crédito pela imagem: R.A. Nuncio-Junior

5.1.4. Pigmentos fotossintetizantes

A quantificação de clorofilas (*a* e *b*) antocianinas e carotenoides foi realizada de acordo com a metodologia escrita por Sims e Gamon (2002). Em um almofariz foram colocadas 0,020

a 0,050 g de folhas frescas congeladas, as quais foram pulverizadas previamente em nitrogênio líquido. Esse material foi homogeneizado em 4 mL de solução de acetona/tampão Tris-HCl (80:20, v/v, pH 7,8, 0,2M). A suspensão resultante foi transferida para tubos de centrifuga (capacidade volumétrica de 1,5 mL) e mantidos em freezer a -20°C por 1 hora. Logo após, as amostras foram centrifugadas a 10000 x g durante 5 minutos a 4°C. Para as leituras do espectrofotômetro, foram utilizados 1500 µL do sobrenadante + 1500µL de solução de acetona/tampão Tris-HCl utilizando-se 663 nm, 647 nm, 537 nm e 470 nm. A concentração de clorofilas *a* e *b* e carotenoides foram calculadas segundo as equações e expressos em µg de pigmento por g de matéria fresca:

Clorofila *a* = $0,01373 \cdot (A_{663}) - 0,000897 \cdot (A_{537}) - 0,003046 \cdot (A_{647})$;

Clorofila *b* = $0,02405 \cdot (A_{647}) - 0,004305 \cdot (A_{537}) + 0,005507 \cdot (A_{663})$;

Antocianina = $0,08173 \cdot (A_{537}) - 0,00697 \cdot (A_{647}) - 0,002228 \cdot (A_{663})$;

Carotenóide = $[A_{470} - (17,1 \cdot (Cl_a - Cl_b) - 9,479 \cdot (Antocianina))] / 119,26$.

Figura 11. Amostra de folhas de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) congeladas com nitrogênio líquido (A); Centrifugação de amostras de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) a 10.000xg por 5min. a 4°C (B); Remoção do sobrenadante da amostra de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) para análise no espectrofotômetro (C); Espectrômetro utilizado para realizar as leituras (D).





Crédito pela imagem: L.C.C. Silva

5.1.5 Delineamento estatístico

As plantas foram distribuídas aleatoriamente em 17 blocos (repetições) com 6 tratamentos. Os tratamentos foram compostos por esquema fatorial com três diferentes disponibilidades de N (25, 50 e 100%) combinadas com 2 níveis de *spray* foliar de Co / Mo (presente/ausente). Os dados foram analisados primeiramente através de estatística descritiva, por meio de gráficos de perfil, histogramas e gráficos médios (com erros padrão médios). Nas medidas de crescimento das plantas foram realizadas as análises de variância (ANOVA), dentro de cada período de coleta. Por outro lado, os dados da amostragem destrutiva (a 120 DAT) foram avaliados por meio de análise de covariância (ANCOVA). A altura e o comprimento iniciais (aos 15 DAT) foram utilizados como covariáveis na análise de crescimento e conteúdo do pigmento, enquanto o diâmetro e o comprimento inicial do caule foram usados como covariáveis para dados de matéria seca. A validade da ANOVA e ANCOVA foi verificada através de gráficos de resíduos e testes de normalidade e homogeneidade de variância (testes de Shapiro-Wilk e Brown-Forsythe, respectivamente). A transformação logarítmica foi necessária para normalizar e homogeneizar a variação dos dados no caso do conteúdo dos pigmentos. As correlações entre os pigmentos foram estudadas pelo coeficiente de correlação linear de Pearson e testadas a partir da distribuição t de student. O Scott-Knott foi utilizado para descrever o padrão de influência dos tratamentos nas respostas de crescimento. No caso de efeitos significativos na ANCOVA, as médias ajustadas foram comparadas pelo teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software R (Team 2019). Os testes de significância foram realizados estabelecendo $\alpha = 0,05$.

5.2 RESULTADOS

5.2.1 Crescimento vegetal e análises de crescimento

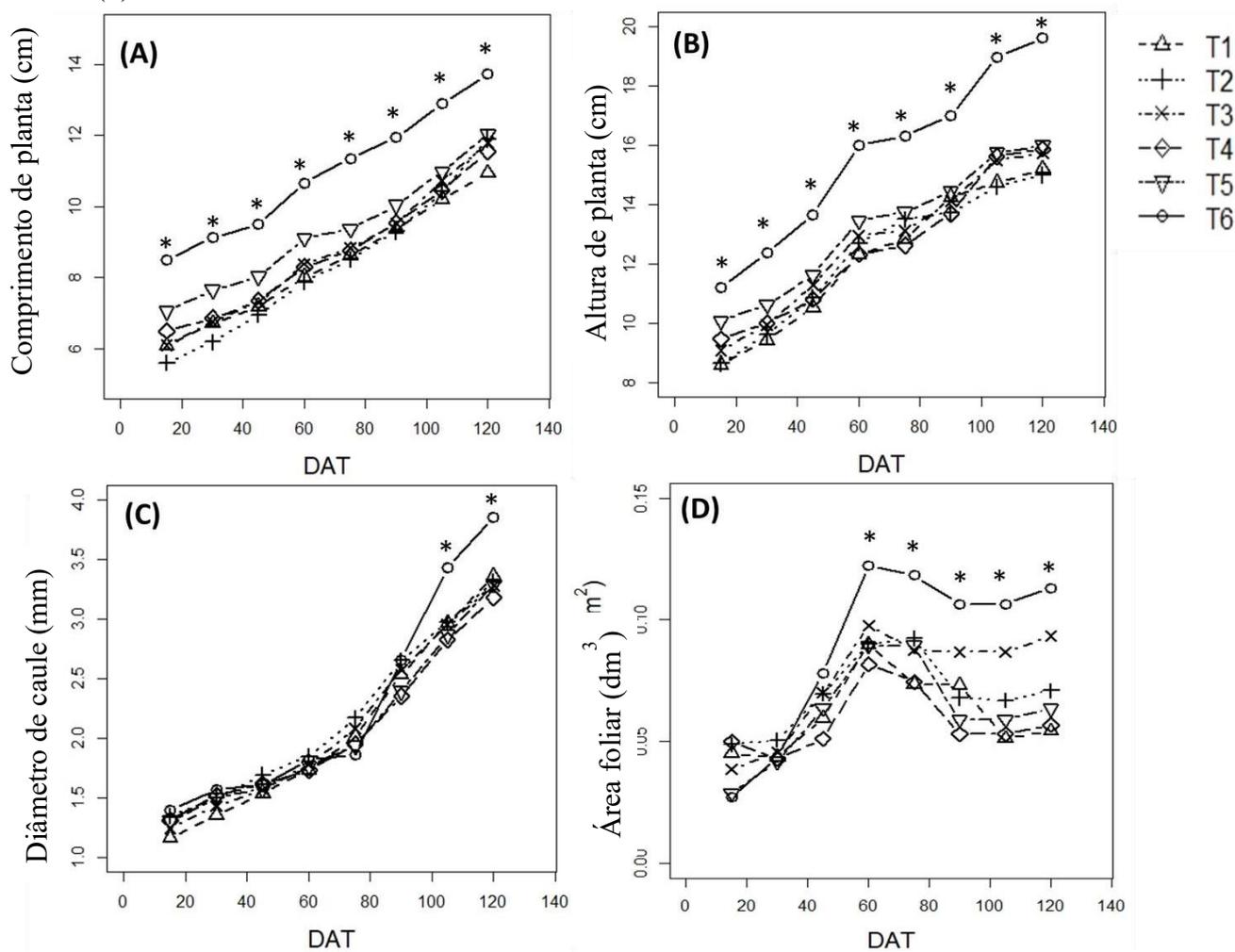
As medidas de altura e comprimento de crescimento das plantas foram afetadas pela disponibilidade de NO_3^- e aplicação foliar de Co e Mo (*spray* de Co / Mo) na maioria dos tempos de coleta (Tabela 5, $P < 0,05$). Entretanto, não houve interação significativa entre a FI e a aplicação de *spray* ($P > 0,05$), com exceção do 60 DAT para altura da planta e 60 e 75 DAT para altura e comprimento de planta. Os efeitos dos fatores experimentais no diâmetro do caule parecem ser ocasionais e não houve padrão consistente de resposta ao longo do tempo (Tabela 5). Em relação à área foliar, houve um efeito das disponibilidades de NO_3^- em quase todos os tempos de coleta (Tabela 5, $P < 0,05$). No entanto, não houve efeito da aplicação foliar de *spray* e interações significativas entre o FI e o *spray* ($P > 0,05$). O método de Scott-Knott foi utilizado para agrupar tratamentos com o mesmo padrão de resposta a cada momento da coleta (Figura 12). Considerando a altura e o comprimento da planta, o tratamento T6 (100% de N mais *spray* de Co/Mo) forneceu os maiores valores em todos os tempos de coleta, sendo os demais tratamentos combinados em um grupo marcado por resultados inferiores ($P < 0,05$). Em relação ao diâmetro do caule, todos os tratamentos foram agrupados até 90 DAT; entretanto, o tratamento T6 apresentou os maiores valores ($P < 0,05$), e os demais tratamentos apresentaram resultados inferiores. Considerando a área foliar, o T6 apresentou melhores resultados de 75 DAT em comparação aos demais tratamentos ($P < 0,05$); entretanto, T3 (100% de N sem *spray* de Co/Mo) apresentou crescimento intermediário das plantas, agrupando T6 a partir de 90 DAT. Assim, o crescimento da planta responde aos aumentos de NO_3^- , mesmo na ausência de NH_4^+ , e o *spray* de Co/Mo proporcionou crescimento adicional, garantindo melhor estabelecimento e mitigação dos efeitos da privação de NH_4^+ .

Tabela 5. Resultados da análise de variância as medidas de crescimento de planta em função do tempo (DTA), aplicação foliar de Co/Mo (*spray*) e disponibilidades de N em plantas jovens de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener) .

| Fonte de Variação | de G.L. ⁺ | Dias após o transplante | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|----------------------|-------------------------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|---------|
| | | 15 | | 30 | | 45 | | 60 | | 75 | | 90 | | 105 | | 120 | |
| | | F | P | F | P | F | P | F | P | F | P | F | P | F | P | F | P |
| Altura | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Disp. de N | 2 | 1.89 | 0.1571 | 3.26* | 0.0428 | 4.34* | 0.0157 | 7.03* | 0.0014 | 4.65* | 0.0118 | 2.89 | 0.0606 | 5.25* | 0.0068 | 5.52* | 0.0054 |
| <i>Spray</i> | 1 | 9.55* | 0.0026 | 7.76* | 0.0064 | 4.93* | 0.0288 | 7.08* | 0.0091 | 4.01* | 0.0479 | 2.80 | 0.0976 | 9.31* | 0.0029 | 9.03* | 0.0033 |
| Interação | 2 | 0.58 | 0.5639 | 1.34 | 0.2660 | 1.51 | 0.2254 | 3.70* | 0.0282 | 4.08* | 0.0200 | 2.78 | 0.0674 | 1.89 | 0.1574 | 2.75 | 0.0688 |
| Comprimento | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Disp. de N | 2 | 2.44 | 0.0927 | 3.11* | 0.0490 | 2.65 | 0.0761 | 4.08* | 0.0198 | 4.66* | 0.0117 | 4.04* | 0.0207 | 4.27* | 0.0167 | 3.30* | 0.0413 |
| <i>Spray</i> | 1 | 11.48* | 0.0010 | 10.25* | 0.0019 | 7.26* | 0.0083 | 9.66* | 0.0025 | 8.73* | 0.0039 | 7.85* | 0.0062 | 5.29* | 0.0236 | 3.47 | 0.0655 |
| Interação | 2 | 1.85 | 0.1627 | 2.42 | 0.0940 | 1.93 | 0.1510 | 2.01 | 0.1396 | 3.17* | 0.0464 | 2.87 | 0.0616 | 1.92 | 0.1515 | 1.24 | 0.2931 |
| Diâmetro | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Disp. de N | 2 | 1.72 | 0.1841 | 0.68 | 0.5079 | 0.47 | 0.6245 | 0.71 | 0.4899 | 0.52 | 0.5953 | 1.36 | 0.2623 | 3.50* | 0.0343 | 2.07 | 0.1321 |
| <i>Spray</i> | 1 | 3.87 | 0.0522 | 3.97* | 0.0493 | 0.00 | 0.9873 | 0.09 | 0.7671 | 5.68* | 0.0191 | 1.96 | 0.1650 | 0.61 | 0.4357 | 0.89 | 0.3467 |
| Interação | 2 | 2.42 | 0.0943 | 1.02 | 0.3641 | 1.58 | 0.2104 | 0.42 | 0.6554 | 0.55 | 0.5802 | 1.44 | 0.2413 | 3.91* | 0.0233 | 3.00 | 0.0545 |
| Área foliar | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Disp. de N | 2 | 3.27* | 0.0424 | 0.41 | 0.6676 | 5.65* | 0.0048 | 4.99 | 0.0087 | 3.77* | 0.0267 | 6.41* | 0.0024 | 9.75* | 0.0001 | 11.05* | <0.0001 |
| <i>Spray</i> | 1 | 3.60 | 0.0607 | 1.93 | 0.1680 | 0.21 | 0.6452 | 0.62 | 0.4323 | 1.20 | 0.2752 | 0.13 | 0.7189 | 0.28 | 0.5980 | 0.33 | 0.5651 |
| Interação | 2 | 2.42 | 0.0942 | 0.79 | 0.4549 | 1.29 | 0.2807 | 2.19 | 0.1172 | 1.50 | 0.2289 | 1.81 | 0.1685 | 0.87 | 0.4216 | 0.84 | 0.4311 |

⁺ G.L. = graus de liberdade. ANOVA realizada com 96 graus de Liberdade para estimar a variação residual. * Efeitos e interações significativas em $\alpha = 0.05$.

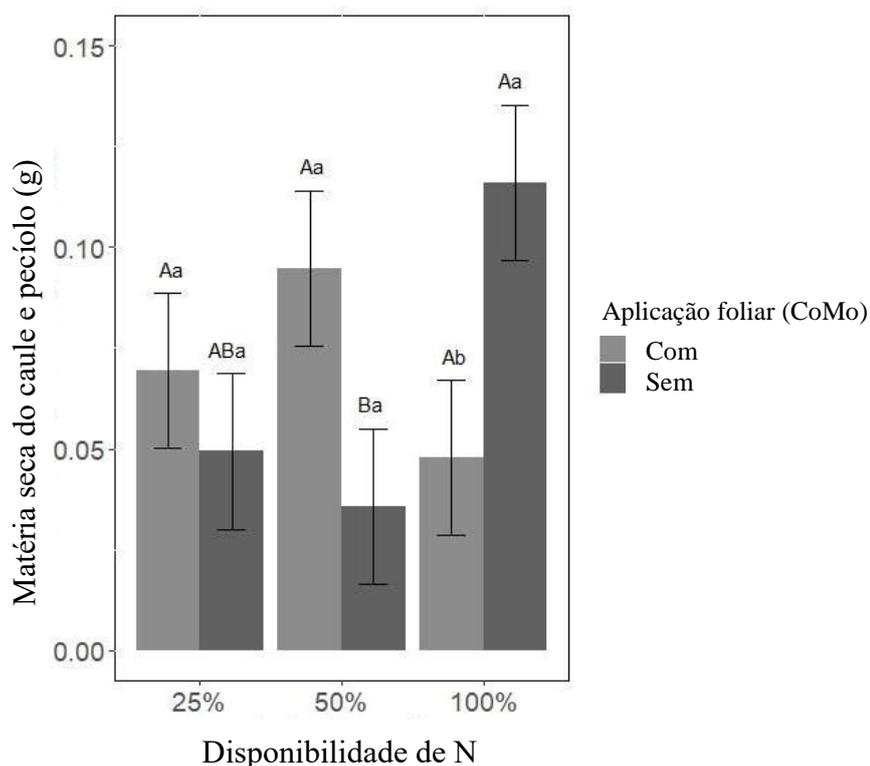
Figura 12. Medidas de crescimento ao longo do tempo (dias após o transplante – DAT) de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) para diferentes disponibilidades de N e aplicação foliar de Mo e Co (T1, T2 e T3 são 25, 50 e 100% de N sem aplicação foliar de Mo/Co; e T4, T5 e T6 são 25, 50 and 100% de N com *spray*). Os valores médios de N = 17 se replicam a cada vez. As avaliações nas quais houve formação de médias de grupos pelo método de Scott-Knott ($P < 0,05$) são identificadas por asteriscos (*)



Com exceção da massa de matéria seca do caule, não foram encontrados efeitos significativos nas medidas de crescimento (ANCOVA, $P > 0,05$). Houve uma interação significativa entre o *spray* de Co / Mo e as disponibilidades de N (ANCOVA; $F = 7,702$, graus de liberdade = 2/10, $P = 0,009$). Na CE baixa (25% de N), a MSC mostrou resultados semelhantes independentemente do *spray* de Co/Mo (Figura 13). No entanto, a massa de matéria seca do caule mostra um valor mais alto sob pulverização de Co/Mo

quando comparado com o controle em uma CE 'moderada' (50% de N), embora a diferença média não tenha sido estatisticamente significativa ($P > 0,05$). Na disponibilidade elevada (100% de N), o padrão foi inverso e a média da massa de matéria seca do caule nas aplicações foliares de Mo e Co foi menor que a do controle (Figura 11; $P < 0,05$).

Figura 13. Matéria seca do caule e pecíolo de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) em função da aplicação foliar e diferentes disponibilidades de N (Média \pm Erro Padrão). Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey com $\alpha = 0,05$. Letras maiúsculas são usadas para comparar as diferentes disponibilidades entre as condições de aplicação foliar, enquanto as letras minúsculas comparam os níveis de aplicação foliar em cada disponibilidade de N.



5.2.2 Pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintéticos (*cla*, *clb* e *car*) foram lineares e correlacionados positivamente (Figura 14; $P < 0,05$). Além disso, os dados do pigmento foram assimetricamente distribuídos e, portanto, tivemos que usar as transformações de Box e Cox antes das análises inferenciais. Na CE baixa (25% de N), o conteúdo de pigmentos

foi consideravelmente maior na ausência de *spray* de Co/Mo (Figura 15) e houve interações significativas entre a CE e o *spray* de Co/Mo ($P < 0,05$; Tabela 6). Além disso, houve um efeito principal significativo do *spray* de Co/Mo para *cla* e *car*, apesar de não haver efeitos significativos da CE no conteúdo de pigmentos. As plantas tratadas com *spray* de Co/Mo mostram os teores médios de *cla* estatisticamente iguais em 25% de N, 50% de N e 100% de N (Figura 15). Enquanto isso, para *clb* e *car*, não houve diferenças entre 50% de N e 100% de N; no entanto, o conteúdo de *clb* e *car* foi estatisticamente menor na FI de 25% quando comparado a FI de 100% ($P < 0,05$). Esse padrão fisiológico é o oposto quando comparamos das diferentes disponibilidades de N na ausência de *spray* de Co/Mo, porque havia um maior teor de pigmentos em disponibilidade baixa (25% de N), enquanto os pigmentos médios eram iguais nos 50% de N e 100% de N (Figura 15).

Figura 14. Distribuição dos teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóide (mg / g) em *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro). *** As correlações lineares de Pearson foram significativas no nível de $\alpha = 0,001$.

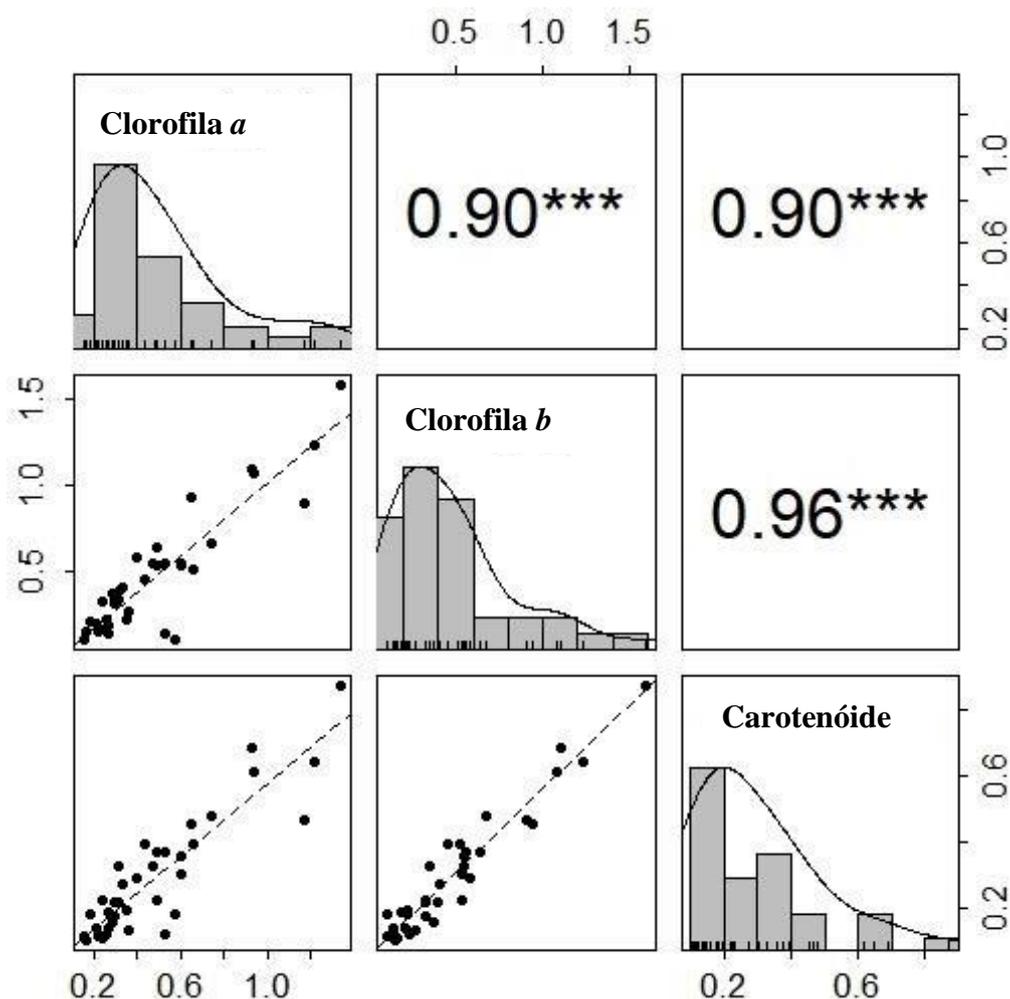
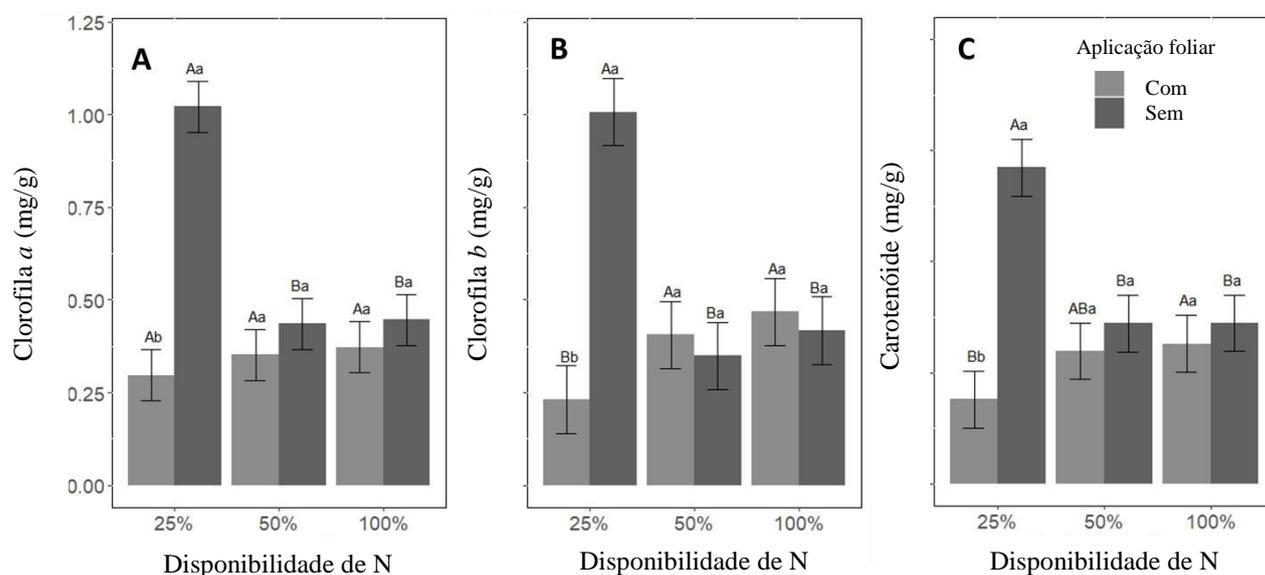


Tabela 6. Resultados da análise de variância e covariância (ANCOVA) para o conteúdo de pigmento foliar a 120 DAT em 6 repetições (n = 6) pelo tratamento de plantas jovens de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (maracujazeiro) (dados transformados pela função logarítmica).

| Fonte da variação | G.L. ⁺ | Clorofila <i>a</i> | | Clorofila <i>b</i> | | Carotenóide | |
|-------------------------------------|-------------------|--------------------|--------|--------------------|--------|-------------|--------|
| | | F | P | F | P | F | P |
| Altura inicial | 1 | 9.37* | 0.0048 | 12.00* | 0.0017 | 11.53* | 0.0021 |
| Comprimento inicial | 1 | 0.67 | 0.4201 | 1.23 | 0.2760 | 1.28 | 0.2667 |
| <i>Spray</i> foliar | 1 | 15.04* | 0.0006 | 2.05 | 0.1632 | 9.52* | 0.0045 |
| Disponibilidades de N | 2 | 2.36 | 0.1127 | 1.45 | 0.2527 | 0.36 | 0.6990 |
| <i>Spray</i> x Disponibilidade de N | 2 | 9.68* | 0.0006 | 13.52* | 0.0001 | 8.80* | 0.0011 |

⁺D.F.= degrees of freedom. * Significant F values at the level of $\alpha = 0.05$. Residual degrees of freedom = 28.

Figura 15. Conteúdo dos pigmentos clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóide de *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener plantas jovens (maracujazeiro) nas diferentes condições de fornecimento de N e aplicação foliar de Mo e Co (Média \pm Erro Padrão, n = 6 repetições). Letras distintas indicam médias estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey com $\alpha = 0,05$. Letras maiúsculas são usadas para comparar as disponibilidades de N entre as condições de aplicação foliar, enquanto as letras minúsculas comparam os níveis de aplicação foliar dentro em cada disponibilidade de N.



5.3 DISCUSSÃO

Nosso estudo verificou os benefícios do *spray* de Co / Mo no estágio fenológico inicial do maracujazeiro cultivado na solução nutritiva Hoagland; Arnon no.1. O nitrogênio (N) desempenha um papel importante no crescimento das plantas e na mediação do desenvolvimento de raízes e parte aérea, cujas principais formas de fonte são NO_3^- e NH_4^+ (HAWKESFORD et al. 2012). A literatura relata os efeitos fisiológicos do NH_4^+ e NO_3^- , no entanto, ainda não está claro se as culturas podem mudar sua preferência durante seus estágios fenológicos de crescimento inicial (JAEGER III et al. 1999; FAGERIA et al. 2010).

O presente estudo indica que as respostas ao crescimento das plantas foram severamente afetadas pela ausência da fonte de NH_4^+ . O NO_3^- requer maior energia metabólica (uso de ATP) para sua assimilação em matéria orgânica, quando comparado ao NH_4^+ . Como o NO_3^- é absorvido na forma oxidada e subsequentemente reduzido a NH_4^+ para ser incorporado na forma de aminoácidos (glutamato). Diferentemente do NH_4^+ , o NO_3^- é prontamente absorvido para posterior incorporação e, conseqüentemente, o NH_4^+ exige menor gasto metabólico (TANG et al. 2015).

Uma disponibilidade inadequada de N (isto é, fonte única de N) promove uma alteração morfofisiológica, partição de fotoassimilados e aumenta a proporção de matéria seca das raízes (ZHU et al. 2018). No entanto, no presente estudo, o grupo experimental tratado com *spray* de Co/Mo apresentou maiores medidas de crescimento cultivadas em CE mais alta (100% de N), enquanto o *spray* de Co/Mo não mostrou efeitos relevantes sob baixo CE (25% de N). Entre as espécies investigadas que prejudicaram o desenvolvimento vegetativo ao adotar uma única fonte de N estão o tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) e o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (RAHAYU et al. 2005; WILLMANN et al. 2014).

A absorção e assimilação de N pelas plantas são processos multirregulados e integrados ao metabolismo geral da planta. A multirregulação do metabolismo do N dificulta a identificação de pontos metabólicos específicos que são mais limitantes para o aumento da produtividade. A fonte de N pode ser importante, especialmente em condições de cultivo em que a disponibilidade de energia é limitada. Além da absorção diferencial de nutrientes, o uso de N também pode variar em função da proporção de NO_3^- e NH_4^+ no meio de cultura, pois o NO_3^- a ser assimilado precisa ser reduzido em um

processo mediado pelas enzimas nitrato redutase (EC 1.6.6.1) e nitrito redutase (EC 1.7.7.1), enquanto o NH_4^+ não exige essa etapa para que seja assimilada em aminoácidos (WANG et al. 2015; BOSCHIERO et al. 2019).

A aplicação de Co e Mo impactou a produção de pigmentos fotossintéticos, reduzindo-os na ausência de NO_3^- . No entanto, o *spray* de Co/Mo não afetou o acúmulo de matéria seca, mas promoveu a abscisão foliar (dados não mostrados). O potencial fisiológico das plantas foi impactado drasticamente para uma fonte única de nitrogênio (NO_3^-) em todos os tratamentos, mostrando uma redução incomum no crescimento das plantas (WALCH-LIU et al. 2000). Esse achado científico corrobora o desenvolvimento da planta no presente estudo em todos os tratamentos, uma vez que o tamanho dos indivíduos da planta foi avaliado durante o período de avaliações experimentais (dados não mostrados).

O estresse de privação de NH_4^+ em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é responsável pela rápida inibição do crescimento foliar, associado a um declínio na concentração de citocinas no exsudato do xilema e no tecido foliar mais jovem. Segundo GLANZ-IDAN e colaboradores (GLANZ-IDAN et al. 2020), o NO_3^- estimula diretamente o acúmulo de citocinina (CK) na parte aérea, com a regulação do crescimento das folhas. Diante disso, a deficiência de N ou sua baixa disponibilidade leva à inibição do crescimento foliar devido ao declínio da concentração de CK (RAHAYU et al. 2005).

Quanto ao conteúdo dos pigmentos, o aumento da exposição do Co às folhas pode causar danos às membranas estruturais das células (plasmalema), como inibição da síntese de pigmentos fotossintéticos. O Co atravessa a cutícula dos órgãos aéreos da planta e após a penetração é transportada para outras estruturas vegetais através do floema da mesma maneira que a fotossíntese (SHAHID et al. 2017; ALI et al. 2018). A disponibilidade de Co em quantidades a partir de $100\mu\text{M}$ causa efeitos tóxicos, como divisão celular reduzida, descoloração e abscisão foliar (LANGE et al. 2017). Além disso, a abscisão foliar em tratamentos privados de fonte de amônio (NH_4^+) é como uma consequência natural do estresse no crescimento das plantas, usando uma fonte nutricional exclusiva (NO_3^-) de N (RAHAYU et al. 2005; CAMPOS et al. 2019). Certas condições de estresse abiótico (ambiental e / ou nutricional), como a deficiência de N, podem alterar o equilíbrio hormonal e a osmorregulação na célula vegetal.

Por outro lado, em plantas tratadas com NO_3^- , os estádios fenológicos do crescimento podem ser atrasados devido às elevadas concentrações do hormônio CK, uma vez que o íon NO_3^- aprimora as formas ativas desse hormônio vegetal (GARNICA et al.

2010). Com a privação de NH_4^+ no meio radicular, as plantas apresentam uma resposta bifásica. Na primeira fase, a taxa de alongamento das folhas é reduzida sem afetar a fotossíntese (ANANDACOOMARASWAMY et al. 2002). O crescimento radicular é mantido ou mesmo estimulado pelo transporte de carbono assimilado para as raízes, o que resulta em uma menor proporção de biomassa brotação / raiz. Concomitantemente, os compostos N, particularmente NO_3^- , são mobilizados para manter o metabolismo do N e a capacidade de absorver NO_3^- do solo é aumentada. Na segunda fase, após a inanição contínua de N, a degradação dos ácidos nucleicos e proteínas das folhas é desencadeada e, geralmente, associada à senescência das folhas (HÖRTENSTEINER e FELLER, 2002).

No entanto, no presente estudo, relatamos que plantas tratadas com *spray* de Co / Mo garantiram a permanência das folhas em comparação com as pulverizações sem Co / Mo. O elemento Co desempenha um papel importante no atraso da senescência foliar pela prevenção da degradação da clorofila através do bloqueio da conversão do ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), pela ACC oxidase, no hormônio vegetal etileno (Et) (DIVTE et al. 2019; LAU e YANG, 1976; YU e YANG, 1979). Além disso, o entendimento desse mecanismo fisiológico de inibição ainda não foi elucidado, mas sabe-se que o Co forma um composto estável com o grupo sulfidril dessa enzima, bloqueando essa ação.

De acordo com Hänsch e Mendel (HÄNSCH e MENDEL, 2009), o aldeído oxidase é uma molibdo-flavoenzima derivada de uma duplicação do gene da xantina desidrogenase e, ambos, usam os mesmos grupos protéticos (FAD +, Fe-S e cofator Mo). Esse mecanismo bioquímico é necessário para obter a função biológica necessária ao crescimento das plantas (MENDEL e KRUSE, 2012; SEO et al. 1998; BROADLEY et al. 2012). Dessa forma, podemos especular que a presença de *spray* Mo promove a catálise enzimática do hormônio vegetal auxina (Ax), beneficiando o estabelecimento da planta durante o estágio fenológico inicial.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

À luz dos dados reportados neste estudo, rejeitamos a hipótese científica, pois, plantas de maracujazeiro, cultivadas em diferentes disponibilidades de N (25%, 50% e 100%) e com aplicação foliar combinada de Mo e Co, resultaram em intensa abscisão foliar durante todo o experimento. Além disso, nenhum dos indivíduos vegetais da

espécie *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener expressaram desenvolvimento vegetativo satisfatório em estágio fenológico inicial. Entretanto, concluímos que a aplicação foliar combinada de Mo e Co atenuou o estresse por deficiência de NO_3^- e privação de NH_4^+ durante o estabelecimento vegetal em viveiro.

7. REFERÊNCIAS

- ALI, S. et al. Insights on the responses of *Brassica napus* cultivars against the cobalt-stress as revealed by carbon assimilation, anatomical changes and secondary metabolites. Environmental and Experimental Botany, v. 156, p. 183 – 196, 2018.
- ANANDACOOMARASWAMY, A. et al. The physiological basis of increased biomass partitioning to roots upon nitrogen deprivation in young clonal tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz). Plant and Soil, v. 238, p. 1-9, 2002.
- BANG, T. C. et al. Small peptide signaling pathways modulating macronutrient utilization in plants. Current Opinion in Plant Biology, v. 39, p. 31-39, 2017.
- BARON, D. et al. Gas exchange, physiological indexes and ionic accumulation in *annona emarginata* (schltdl.) H. Rainer seedlings in nutrients solution. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 35, n. 2, p. 361-376, 2013.
- BEGOVIĆ, L. et al. Response of *Lemna minor* L. to short-term cobalt exposure: The effect on photosynthetic electron transport chain and induction of oxidative damage. Aquatic Toxicology, v. 175, p. 117 – 126, 2016.
- BENINCASA, M.M.P. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). Fundação Nacional de Ensino e Pesquisa, Jaboticabal, Brasil. p. 41, 2003.
- BENYÓ, D. et al. Physiological and molecular responses to heavy metal stresses suggest different detoxification mechanism of *Populus deltoides* and *P. x canadensis*. Journal of Plant Physiology, v. 21, p. 62-70, 2016.
- BOSCHIERO, B. N. et al. Influence of nitrate - ammonium ratio on the growth, nutrition, and metabolism of sugarcane. Plant Physiology and Biochemistry, v. 139, p. 246-255, 2019.
- BOUZID, S.; RAHMOUNE, C. Enhancement of Saline Water for Irrigation of *Phaseolus vulgaris* L. Species in Presence of Molybdenum. Procedia Engineering, v. 33, p. 168-173, 2012.
- BROADLEY, M. et al. Beneficial Elements. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition), 2012. pp. 249-269.
- CAMPOS, F. G. et al. Nitrogen in the defense system of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer. Plos One, v. 14, 2019.

CEAGESP, Companhia de Entrepósitos e Armazéns gerais de São Paulo. Cotações – Preços no Atacado, 2020. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/entrepósitos/serviços/cotacoes/#cotacao>>, Acesso em: 14 de junho de 2020.

CHATER, J. M.; GARNER, L. C. Foliar nutrient applications to ‘Wonderful’ pomegranate (*Punica granatum* L.). II. Effects on leaf nutrient status and fruit split, yield and size. Scientia Horticulturae, v. 242, p. 207-213, 2018.

CHATTERJEE, J.; CHATTERJEE, C. Management of phytotoxicity of cobalt in tomato by chemical measures. Plant Science, p. 793-801. 2003.

CHATTERJEE, R.; BANDYOPADHYAY, S. Effect of boron, molybdenum and biofertilizers on growth and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in acid soil of eastern Himalayan region. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, v. 16, 2015.

CHATZISTATHIS, T. Chapter 7 - Physiological Importance of Manganese, Cobalt and Nickel and the Improvement of Their Uptake and Utilization by Plants. Plant Micronutrient Use Efficiency, p. 123-135, 2018.

COLE, J. C. et al. Nitrogen, phosphorus, calcium, and magnesium applied individually or as a slow release or controlled release fertilizer increase growth and yield and affect macronutrient and micronutrient concentration and content of field-grown tomato plants. Scientia Horticulturae, v. 211, p. 420-430, 2016.

COMETTI, N. N. et al. IV - Soluções nutritivas: formulação e aplicações. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo: SBCS, p. 432, 2006.

CONTIERO, R. L. et al. Quantidade de transposição do líquido pulverizado sobre palha de cana-de-açúcar com pontas de pulverização tipo leque e cone1. Planta Daninha, v. 30, n. 1, p. 211-216, 2012.

CUI, J. et al. Plant preference for NH₄⁺ versus NO₃⁻ at different growth stages in an alpine agroecosystem. Field Crops Research, v. 201, p. 192-199, 2017.

DIVTE, P et al. Ethylene regulation of root growth and phyto siderophore biosynthesis determines iron deficiency tolerance in wheat (*Triticum* spp). Environmental and Experimental Botany, v. 162 p. 1-13, 2019.

ESTRADA, N. B. et al. Stable isotopic composition of perchlorate and nitrate accumulated in plants: Hydroponic experiments and field data. Science of The Total Environment, v. 595, p. 556-566, 2017.

FAGERIA, N. K. et al. Growth and mineral nutrition of field crops 3rd Edition. Boca Raton: CRC Press, p. 560. 2010.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Chapter 7 Ameliorating Soil Acidity of Tropical Oxisols by Liming For Sustainable Crop Production. In: Advances in Agronomy, v. 99. p. 345-399, 2008.

FERNANDES, A. C. et al. Initial growth of shoot and root of three alfalfa cultivars. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 9, p. 51-56, 2005.

FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R. et al. Symptoms of nutrient deficiencies in young olive trees and leaf nutrient concentration at which such symptoms appear. Scientia Horticulturae, v. 209, p. 279-285, 2016.

FERREIRA, I. E. P. et al. Reconciling the Mitscherlich's law of diminishing returns with Liebig's law of the minimum. Some results on crop modeling. Mathematical Biosciences, v. 293, p. 29-37, 2017.

FULLIN, E. A. et al. Nitrogênio e molibdênio na adubação do feijoeiro irrigado. Pesquisa agropecuaria brasileira, v. 34, n. 7, p. 1145-1149, 1999.

GAD, N.; ATTA-ALY, M. Effect of cobalt on the formation, growth and development of adventitious roots in tomato and cucumber cuttings. Journal of applied sciences research, v. 2, p. 423-429, 2006.

GÁL, J. et al. Cobalt and secondary poisoning in the terrestrial food chain: Data review and research gaps to support risk assessment. Environment International, v. 34, p. 821-838, 2008.

GARNICA M, et al. The signal effect of nitrate supply enhances active forms of cytokinins and indole acetic content and reduces abscisic acid in wheat plants grown with ammonium. Journal of Plant Physiology, v. 167, p. 1264-1272, 2010.

GLANZ-IDAN, N. et al. Root-shoot communication in tomato plants: cytokinin as a signal molecule modulating leaf photosynthetic activity. Journal of experimental botany, v. 71, p. 247-257, 2020.

GROVER, S.; PURVES, W. K. Cobalt and Plant Development; Interactions With Ethylene In Hypocotyl Growth. Plant Physiology, p. 886-889, v. 57, 1976.

GUO, L. et al. Responses of *Landoltia punctata* to cobalt and nickel: Removal, growth, photosynthesis, antioxidant system and starch metabolism. Aquatic Toxicology, v. 190, p. 87 – 93, 2017.

HAILE, D. et al. Nitrogen use efficiency of bread wheat: Effects of nitrogen rate and time of application. Journal of soil science and plant nutrition, v. 12, p. 389-410, 2012.

HANSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). Plant Biology, v.12, n.3, p.259-266, 2009.

HAWKESFORD, M. et al. Chapter 6 - Functions of Macronutrients. In: Marschner P (ed) Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition). Academic Press, San Diego, p. 135-189, 2012.

HIPPLER, F. W. R. et al. Revisiting nutrient management for *Citrus* production: to what extent does molybdenum affect nitrogen assimilation of trees? Scientia Horticulturae, v.

225, p. 462-470, 2017.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soils. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, p. 347, 1950.

HUANG L. et al. Uptake and metabolism of ammonium and nitrate in response to drought stress in *Malus prunifolia*. Plant Physiology and Biochemistry, v. 127, p. 185 – 193, 2018.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA, 2019. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457/>>. Acesso em: 14 de junho de 2020.

JAEGER III, C. H. et al. Seasonal partitioning of nitrogen by plants and soil microorganisms in an alpine ecosystem. Ecology, v. 80, p. 1883-1891, 1999.

JARDIN, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. Scientia Horticulturae, v. 196, p. 3-14, 2015.

KAISER, B. N. et al. The role of molybdenum in agricultural plant production. Annals of botany, v. 96, p. 745-754, 2005.

KOVÁCS, B. et al. Effect of molybdenum treatment on molybdenum concentration and nitrate reduction in maize seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, v. 96, p. 38-44, 2015.

KROUK, G. et al. Regulation of the high-affinity NO₃⁻ uptake system by NRT1.1-mediated NO₃⁻ demand signaling in *Arabidopsis*. Plant Physiology, v.142, p. 1075-1086, 2006.

LANGE, B. et al. Copper and cobalt mobility in soil and accumulation in a metallophyte as influenced by experimental manipulation of soil chemical factors. Chemosphere, v. 146, p. 75-84, 2016.

LANGE, B. et al. Functional traits of a facultative metallophyte from tropical Africa: population variation and plasticity in response to cobalt. Environmental and Experimental Botany, v. 136, p. 1-8, 2017.

LAU, O. L.; YANG, S. F. Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. Plant Physiology, v. 58, p. 114-117, 1976.

LEENU, S.; SHEELA, D. Effect of Co and Cu (Heavy Metals) on the Anatomical and Histochemical Aspects of *Eichhornia Crassipes* (Mart.) Solms. International Journal for Research In Emerging Science And Technology, v. 3, p. 15-18, 2016.

LI, H. F. et al. Phytotoxicity and bioavailability of cobalt to plants in a range of soils. Chemosphere, v. 75, p. 979-986, 2009.

LI, M. et al. Photosynthetic characteristics and metabolic analyses of two soybean genotypes revealed adaptive strategies to low-nitrogen stress. Journal of Plant Physiology, v. 229, p. 132-141, 2018.

LIU, M. Y. et al. Analyses of transcriptome profiles and selected metabolites unravel the metabolic response to NH_4^+ and NO_3^- as signaling molecules in tea plant (*Camellia sinensis* L.). Scientia Horticulturae, v. 218, p. 293-303, 2017.

LWALABA, J. L. W. et al. Alleviating effects of calcium on cobalt toxicity in two barley genotypes differing in cobalt tolerance. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 139, p. 488-495, 2017.

MAATHUIS, F. J. Physiological functions of mineral macronutrients. Plant Biology, v.12, n.3, p.250-258, 2009.

MANUEL, T. J. et al. Chapter 8 - Roles of Molybdenum in Plants and Improvement of Its Acquisition and Use Efficiency. Plant Micronutrient Use Efficiency, p. 137-159, 2018.

MARCONDES, J. A. P.; CAIRES, E. F. Aplicação De Molibdênio E Cobalto Na Semente Para Cultivo Da Soja. Bragantia, v. 64, n. 4, p. 687-694, 2005.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. San Diego: Academic Press, p. 889, 1995.

MENDEL, R. R.; KRUSE, T. Cell biology of molybdenum in plants and humans. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research, p. 1568-1579, 2012.

NAIR, S. et al. Evaluation of transgenic tobacco plants expressing a bacterial Co–Ni transporter for acquisition of cobalt. Journal of Biotechnology, v. 161, p. 422-428, 2012.

OLUOCH, P. et al. Analysis of genetic diversity of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) genotypes grown in Kenya by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. Annals of Agrarian Science, 2018.

PACHECO, A. L.V. et al. Mineral composition of pulp and production of the yellow passion fruit with organic and conventional fertilizers. Food Chemistry, v. 217, p. 425-430, 2017.

PEÇANHA, A. L. et al. Leaf gas exchange and growth of two papaya (*Carica papaya* L.) genotypes are affected by elevated electrical conductivity of the nutrient solution. Scientia Horticulturae, v. 218, p. 230-239, 2017.

PILON-SMITS, E. A. et al. Physiological functions of beneficial elements. Current Opinion in Plant Biology, v.12, p.267-274, 2009.

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

RAHAYU, Y. S. et al. Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO_3^- induced stimulation of leaf growth. Journal of Experimental Botany, v. 56, n. 414, p. 1143–1152, 2005.

RÖMHELD, V. Chapter 11 - Diagnosis of Deficiency and Toxicity of Nutrients.

- Marschner P (ed) Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition). Academic Press, San Diego, p. 299-312, 2012.
- ROUSSOS, P. A. et al. Impact of organic fertilization on soil properties, plant physiology and yield in two newly planted olive (*Olea europaea* L.) cultivars under Mediterranean conditions. Scientia Horticulturae, v. 220, p. 11-19, 2017.
- SEO, M. et al. Higher activity of an aldehyde oxidase in the auxin-overproducing superroot1 mutant of *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology, v. 116, p. 687-693, 1998.
- SHAHID, M. et al. Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. Journal of Hazardous Materials, v. 325, p. 36-58, 2017.
- SILVA, L. M. R. et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. Food Chemistry, v. 143, p. 398-404, 2014.
- SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. Remote Sensing of Environment, v. 81, n. 2-3, p. 337-354, 2002.
- SOUSA, G. G. et al. Crescimento de mudas de maracujazeiro em função de adubação à base de boro e material de cupinzeiro. Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics), v. 41, n. 2, p. 170-178, 2011.
- SOUSA, V. F. et al. Distribuição radicular do maracujazeiro sob diferentes doses de potássio aplicadas por fertirrigação. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 6, n. 1, p. 51-56, 2002.
- SOUZA, P. U. et al. Biometric, physiological and anatomical responses of *Passiflora* spp. To controlled water deficit. Scientia Horticulturae, v. 229, p. 77-90, 2018.
- TANG, D. et al. Preferential assimilation of NH₄⁺ over NO₃⁻ in tea plant associated with genes involved in nitrogen transportation, utilization and catechins biosynthesis. Plant Science, v. 291, 2020.
- TOMATSU, H. et al. An *Arabidopsis thaliana* high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 104, p. 18807-19912, 2007.
- VAN BEUSICHEM, M. L. et al. Influence of Nitrate and Ammonium Nutrition on the Uptake, Assimilation, and Distribution of Nutrients in *Ricinus communis*. Plant Physiology, v. 86, p.914, 1988.
- WALCH-LIU, P. et al. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. Journal of Experimental Botany, v. 51, p. 227-237, 2000.
- WANG, Y. et al. Regulation of potassium transport and signaling in plants. Current Opinion in Plant Biology, v. 39, p. 123-128, 2017.

WANG, Z. et al. Effect of ammonium and nitrate nitrogen fertilizers on wheat yield in relation to accumulated nitrate at different depths of soil in drylands of China. Field Crops Research, v. 183, p. 211-224, 2015.

WEI, H. et al. Effect of Different Cultivation Systems on the Accumulation of Nutrients and Phytochemicals in *Ligularia fischeri*. Horticultural Plant Journal, v. 4, p. 24-29, 2018.

WILLIAMS, C. M. J. et al. Effect of Molybdenum Foliar *Sprays* on Yield, Berry Size, Seed Formation, and Petiolar Nutrient Composition of “Merlot” Grapevines. Journal of Plant Nutrition, v. 27, n. 11, p. 1891-1916, 2005.

WILLMANN A. et al. The poplar NRT2 gene family of high affinity nitrate importers: Impact of nitrogen nutrition and ectomycorrhiza formation. Environmental and Experimental Botany, v. 108, p. 79-88, 2014.

WILSON, S. B.; NICHOLAS, D. J. J. A cobalt requirement for non-nodulated legumes and for wheat. Phytochemistry, v. 6, p. 1057-1066, 1967.

WORTMAN, S. E. Crop physiological response to nutrient solution electrical conductivity and pH in an ebb-and-flow hydroponic system. Scientia Horticulturae, v. 194, p. 34-42, 2015.

YU, Y. B; YANG, S. F. Auxin-induced Ethylene Production and Its Inhibition by Aminoethoxyvinylglycine and Cobalt Ion. Plant Physiology, v. 64, p. 1074-1077, 1979.

ZAMBONI, M. Vegetative, physiological and nutritional behavior of new grapevine rootstocks in response to different nitrogen supply. Scientia Horticulturae, v. 202, p. 99-106, 2016.

ZENG, W. et al. Impacts of Salinity and Nitrogen on the Photosynthetic Rate and Growth of Sunflowers (*Helianthus annuus* L.). Pedosphere, v. 24, p. 635-644, 2014.

ZHANG, Y. S. et al. Comparative genomics and evolution of molybdenum utilization. Coordination Chemistry Reviews, p. 1206-1217, 2011.

ZHU, F. Y. et al. SWATH- MS quantitative proteomic investigation of nitrogen starvation in *Arabidopsis* reveals new aspects of plant nitrogen stress responses. Journal of Proteomics, v. 187 p. 161-170, 2018.