



LAÍZE APARECIDA FERREIRA VILELA

**CÉRIO, LANTÂNIO, NEODÍMIO E ÍTRIO NO
CRESCIMENTO DE MILHO NA PRESENÇA E
AUSÊNCIA DE MICORRIZA EM CASA DE
VEGETAÇÃO E DA APLICAÇÃO DE MIX
DESSES ELEMENTOS NA PRODUÇÃO DE
GRÃOS EM CAMPO**

LAVRAS - MG

2015

LAÍZE APARECIDA FERREIRA VILELA

**CÉRIO, LANTÂNIO, NEODÍMIO E ÍTRIO NO CRESCIMENTO DE
MILHO NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE MICORRIZA EM CASA DE
VEGETAÇÃO E DA APLICAÇÃO DE MIX DESSES ELEMENTOS NA
PRODUÇÃO DE GRÃOS EM CAMPO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Doutora.

Orientador

Dr. José Oswaldo Siqueira

Coorientador

Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro

LAVRAS – MG

2015

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Vilela, Laíze Aparecida Ferreira.

Cério, lantânio, neodímio e ítrio no crescimento de milho na presença e ausência de micorriza em casa de vegetação e da aplicação de mix desses elementos na produção de grãos em campo / Laíze Aparecida Ferreira Vilela. – Lavras : UFLA, 2015.

134 p.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador: José Oswaldo Siqueira.

Bibliografia.

1. Elementos terras raras. 2. Colonização micorrízica. 3. Clorofila. 4. Atividade fotossintética. 5. Fungos micorrízicos arbusculares. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LAÍZE APARECIDA FERREIRA VILELA

**CÉRIO, LANTÂNIO, NEODÍMIO E ÍTRIO NO CRESCIMENTO DE
MILHO NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE MICORRIZA EM CASA DE
VEGETAÇÃO E DA APLICAÇÃO DE MIX DESSES ELEMENTOS NA
PRODUÇÃO DE GRÃOS EM CAMPO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, área de concentração em Biologia, Microbiologia e Processos Biológicos do Solo, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 30 de março de 2015.

Dr. Valdemar Faquin	UFLA
Dr. Luiz Roberto Guimarães Guilherme	UFLA
Dr. Marco Aurélio Carbone Carneiro	UFLA
Dr. Evaristo Mauro de Castro	UFLA
Dra. Marisa Bezerra de Mello Monte	ITV - VALE

Dr. José Oswaldo Siqueira
Orientador

LAVRAS – MG

2015

Ao meu filho Luís Henrique,
O sol que ilumina os meus dias, que fez com que cada
dificuldade e todos os dias tristes parecessem mais
fáceis e menos dolorosos. Pelo companheirismo, apoio
incondicional e enorme compreensão em todas as
minhas ausências,

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciência do Solo (DCS), pela oportunidade concedida para realização do doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos. Ao Instituto Tecnológico Vale (ITV) pelo financiamento do projeto de pesquisa. À FAPEMIG e CAPES pelo custeio de participações em eventos científicos e materiais de laboratório.

Ao Prof. José Oswaldo Siqueira pela orientação durante o curso de doutorado. Ao Pesquisador Sílvio J. Ramos pelo acompanhamento, apoio e constante orientação na condução dos estudos. Ao Prof. Luiz Roberto Guimarães Guilherme pela atuação e grande contribuição nos estudos realizados.

Ao Prof. Jorge Eduardo Sarkis e ao técnico João Cristiano Ulrich, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares de São Paulo, pela parceria e disponibilização do laboratório para quantificação dos elementos terras raras.

À Profa. Fátima Moreira, pelos ensinamentos repassados durante todo o curso de doutorado.

Às pós-doutorandas Cláudia Labory e Cynthia Oliveira pelos ensinamentos e auxílio nas análises.

Ao Sr. Toninho Gazzari e o Eng. Agrônomo Newton Cabral, do Grupo Irmãos Gazarini, pelo fornecimento da área e de toda estrutura necessária para a realização do ensaio de campo em Jataí-GO. Muito Obrigada!

Aos professores do Departamento de Ciência do Solo, pelos ensinamentos transmitidos e caminhos mostrados. Em especial, aos professores Alfredo Scheid Lopes, Nilton Curi e Valdemar Faquin pela impressionante troca de conhecimento e importantes orientações, não somente no desenvolvimento deste trabalho, como também em diversos outros aspectos da vida profissional

de um pós-graduando. Aprender com os grandes é privilégio para poucos, agradeço em ter esse privilégio!

Aos alunos de iniciação científica Mateus Henrique Barbosa, Débora Emboaba, Natália Braga, Maraísa Souza, Daniela Teixeira e Pedro Henrique Pacheco por fazer parte de todo este trabalho. Sem o trabalho contínuo de vocês, tudo seria mais difícil!

Ao querido técnico Manoel, por toda convivência e tantos ensinamentos passados com tanta paciência, disposição e alegria. À técnica Dra. Geila Carvalho pelo imenso auxílio nas digestões das amostras vegetais.

Ao doutorando, Guilherme Dinali, pela participação efetiva na quantificação dos elementos terras raras.

Aos queridos amigos do Laboratório de Microbiologia do Solo e do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, pelos momentos de descontração e diversão, em especial à Andressa Naves, Anita Teixeira, Eduardo Cancellier, Damy Pádua, Elaine Martins, Linnajara Vasconcelos, Luiz Paulo, Jacqueline Savana, Luciane Sales, Marisângela Barbosa, Rayssa Vicentim, Soraya Bamberg.

Ao meu coorientador e grande mestre, Prof. Marco Aurélio Carbone Carneiro, por ter me inserido na pesquisa científica e que, pela convivência e enorme transferência do seu conhecimento, proporcionou-me crescimento e aperfeiçoamento profissional. Agradeço o acompanhamento e as orientações que se estenderam, desde o início de minha inserção na pós-graduação, contribuindo para que eu fosse cada vez maior e mais capaz. Agradeço, também, a sua esposa Andrea pelo carinho, bom humor sempre presente e pela amizade por todo este tempo.

Ao grande amigo e mestre Prof. Helder Barbosa Paulino pelas estimulantes trocas de ideias, pela mão amiga sempre estendida, especialmente

em momentos difíceis e complicados, desde o curso de Mestrado em Agronomia. Não teria chegado até aqui sem a participação de vocês!

Aos meus “pais de Lavras”, Dona Guilhermina, Dona Taíza e Seu Geraldinho que me acolheram em sua casa, proporcionando-me uma adaptação calorosa em Lavras e pela constante presença amiga em minha vida! Vocês estarão sempre comigo!

Às minhas queridas amigas Divani Costa, Priscila Aquino, Silvana Leite, Paula Camylla, Flávia Dias pela compreensão nas ausências, pelos diálogos e conselhos dados ao longo de todo este tempo.

À minha querida avó Elizete e minha segunda mãe Irany por estarem sempre presentes e fornecer apoio incondicional em todas as dificuldades enfrentadas.

Aos meus irmãos Marcos Vinícius e Ricardo que, mesmo distantes, fizeram-se presentes apoiando-me, para que cada empecilho ou desafio fosse superado, trazendo sempre o bom humor para alegrar os meus dias!

Ao meu filho Luís Henrique, a fonte de toda a minha força e inspiração, pela enorme compreensão nos momentos de ausência e distância, pela companhia constante em todo o curso de doutorado, em experimentos, aulas... Enfim, esse título tão almejado e agora alcançado também é seu, meu filho!

Aos meus pais Cairo e Maria Aparecida por terem sido simplesmente a fortaleza e o alicerce que me sustentaram todo este tempo. Por terem acreditado que eu seria capaz de vencer cada desafio encontrado! Este título não existiria sem vocês na minha!

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para que eu alcançasse mais esse sonho, recebam com carinho o meu **MUITO OBRIGADA!!!**

Se seus sonhos estão nas nuvens, não
se preocupe! Eles estão no lugar
certo! Construa agora os alicerces!

Willian Shakespeare

RESUMO

O termo elementos terras raras (ETRs) refere-se aos lantanídeos e aos elementos escândio (Sc) e ítrio (Y), pertencentes à família IIIB da Tabela periódica. Os ETRs estão presentes em mais de 200 minerais e, em virtude das similaridades de raio iônico, esses elementos apresentam capacidade de substituir o Ca^{2+} na estrutura cristalina dos minerais que compõem as apatitas e fluoritas, principais matérias primas para a fabricação de fertilizantes fosfatados. Esse processo contribui para a presença de quantidades relevantes de ETRs nesses fertilizantes e pode influenciar o crescimento de plantas e a colonização micorrízica. Os resultados disponíveis, tanto dos efeitos em plantas quanto na micorriza, são restritos às regiões específicas, o que impossibilita generalizações para a realidade brasileira. Assim, no presente trabalho avaliou-se o efeito de Ce, La, Nd e Y no crescimento de milho, em casa de vegetação, na presença e ausência de propágulos de FMAs e da aplicação de mix desses elementos na produção de grãos de milho no campo. A primeira parte do estudo foi conduzida em casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras, onde foram testadas individualmente doses crescentes de Ce, La, Nd e Y, em duas formas de aplicação (solo e tratamento de sementes), com ausência e presença de propágulos de FMAs no crescimento e colonização micorrízica de milho. A segunda parte do estudo foi conduzida em campo com a aplicação de mix desses ETRs, em três formas de aplicação (solo, sementes, foliar) e sua interação com Zn (ETRs; ETRs + Zn; Zn) na produção de grãos de milho. Em casa de vegetação, a aplicação individual de 57,39; 34,53; 29,58 e 15,52 mg dm^{-3} de Ce, La, Nd e Y no solo, e de 11,35; 9,02; 11,03 e 6,28 mg L^{-1} no tratamento de sementes, de Ce, La, Nd e Y, respectivamente, aumentaram o crescimento das plantas de milho e a colonização micorrízica. As plantas micorrizadas apresentaram teores mais elevados de Ce, La, Nd e Y que aquelas não micorrizadas. Em campo, a aplicação foliar de ETRs promoveu a maior produção de grãos. A aplicação do mix Ce, La, Nd e Y promoveu acúmulo destes na planta e os teores decresceram na ordem de raízes > parte aérea > grãos. Os maiores teores de ETRs ocorreram, nos grãos, pelo tratamento de sementes; nas folhas, pela aplicação foliar e; nas raízes, pela aplicação no solo. A aplicação de ETRs + Zn reduziu a produção de grãos assim como taxa fotossintética líquida e a clorofila em aplicação foliar.

Palavras-chave: Elementos terras raras. Colonização micorrízica. Clorofila. Atividade fotossintética. Atividade transpiratória. Condutância estomática.

ABSTRACT

The expression "Rare Earth Elements" (REE) refers to lanthanides, as well as the scandium (Sc) and yttrium (Y), elements found in the group IIIB of the Periodic Table. They may be found in more than 200 minerals and, due to similarity in their ionic radius, can replace Ca^{2+} in the crystal structure of minerals which compose the apatite and fluorite, the main raw material for the phosphate fertilizers manufacturing. This process contributes to the presence of relevant quantity of REE in P-fertilizers and, can influence the plants growth and the mycorrhizal colonization. The existing data about this influence are restricted to specific places, which make impossible generalizations for Brazil. In this study, we aimed to assess the effect of Ce, La, Nd and Y in the maize growth in greenhouse, with and without propagula of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), as well as the application of a mixing of these elements in the cropping maize grain on field. The first trial was performed at the Federal University of Lavras, in which increasing doses of Ce, La, Nd and Y were tested in two treatment forms; namely, soil and seed treatment. The second trial was performed on field, and three treatment forms with mixings of REE were applied, namely, on the soil, seed and leaves; as well as its interaction with Zn. According to results, 57.39; 34.53; 29.58 and 15.52 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ of Ce, La, Nd and Y on the soil; and 11.35; 9.02; 11.03 and 6.28 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of Ce, La, Nd and Y on the seed increased, respectively, the plants growth and the mycorrhizal colonization in the greenhouse. Mycorrhizal plants showed higher content of Ce, La, Nd and Y than those not mycorrhizal. On field, the leaf application of REE promoted the greater maize grain production, while the mixing of Ce, La, Nd and Y promoted their accumulation in plant tissues and, their content decreased in the following order: roots > shoots > grain. The greatest content of REE was found in the grain yield by the seeds treatment, in leaves by the leaf application, and roots by the soil treatment. Association of REE and Zn reduced the grain yield, as well as the net photosynthetic rate and chlorophyll in leaf application.

Key-words: Rare Earth Elements. Mycorrhizal colonization. Chlorophyll. Photosynthetic activity. Transpiratory activity. Stomatal conductance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Colonização micorrízica de milho submetido à aplicação de Ce (a), La (b), Nd (c) e Y (d) no solo, em casa de vegetação56
Figura 2	Colonização micorrízica de milho submetido à aplicação de Ce (a), La (b), Nd (c) e Y (d) no tratamento de sementes, em casa de vegetação60
Figura 3	Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de Ce no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação63
Figura 4	Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Ce no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação 66
Figura 5	Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de La no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação71
Figura 6	Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de La no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação74
Figura 7	Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de Nd no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação79

Figura 8	Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Nd no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	82
Figura 9	Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de Y no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	86
Figura 10	Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Y no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	89
Figura 11	Teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea (a, c, e, g) e nas raízes (b, d, f, h) de milho submetido à aplicação desses ETRs no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	94
Figura 12	Teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea (a, c, e, g) e nas raízes (b, d, f, h) de milho submetido à aplicação desses ETRs no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	98
Figura 13	Teor de Zn na folha de milho submetido a três formas de aplicação (a) com e sem combinação com mix de Ce, La, Nd e Y (b)	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resumo da análise de variância (significância do teste F) da colonização micorrízica de milho submetido à aplicação de Ce, La, Nd e Y no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação.....	55
Tabela 2	Equações da regressão linear de colonização micorrízica (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Ce, La, Nd e Y no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação.....	57
Tabela 3	Resumo da análise de variância de plântulas normais, produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Ce no solo e no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	61
Tabela 4	Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso^{-1}), índice de clorofila e plântulas normais (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Ce no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação.....	64
Tabela 5	Matéria seca de raízes e índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Ce e inoculação com FMAs, em casa de vegetação.....	65
Tabela 6	Resumo da análise de variância (significância do teste F) da produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de La no solo e no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	70

Tabela 7	Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso^{-1}), índice de clorofila e plântulas normais (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de La no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação.....	72
Tabela 8	Matéria seca de parte aérea, matéria seca de raízes e índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de La e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	73
Tabela 9	Índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de La e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	75
Tabela 10	Resumo da análise de variância (significância do teste F), de produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Nd no solo e no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	77
Tabela 11	Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso^{-1}), índice de clorofila e plântulas normais (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Nd no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação.....	80
Tabela 12	Matéria seca de parte aérea e índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Nd e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	81
Tabela 13	Resumo da análise de variância (significância do teste F) da produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Y no solo e no	

	tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	84
Tabela 14	Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso^{-1}), plântulas normais (%) e índice de clorofila de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Y no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação.....	87
Tabela 15	Matéria seca de raízes de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Y e inoculação com FMAs, em casa de vegetação....	88
Tabela 16	Índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Y no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	90
Tabela 17	Resumo da análise de variância (significância do teste F) do teor de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e nas raízes de milho submetido à sua aplicação no solo ou no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação	92
Tabela 18	Equações da regressão linear do teor de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e nas raízes de milho submetido à sua aplicação no solo ou no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação.....	95
Tabela 19	Teor de Ce na parte aérea e nas raízes e teor de La na parte aérea de milho submetido a sua aplicação no tratamento de sementes e inoculação com FMAs	99
Tabela 20	Resumo da análise de variância (significância do teste F) de produção de grãos, índice de clorofila, atividade fotossintética, atividade transpiratória, condutância estomática, colonização micorrízica, densidade de esporos de FMAs, teores e fator de translocação de Zn, Ce, La, Nd e Y nas raízes, folhas e grãos	

	de milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo... 103
Tabela 21	Produção de grãos de milho (kg ha^{-1}) submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo..... 105
Tabela 22	Índice de clorofila, atividade fotossintética líquida, atividade transpiratória e condutância estomática de milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo..... 106
Tabela 23	Colonização micorrízica (%) e densidade de esporos de FMAs ($\text{n}^\circ 50 \text{ dm}^{-3}$) de um LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico cultivado com milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo 110
Tabela 24	Teor de zinco nas raízes e nos grãos de milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo..... 112
Tabela 25	Teores de Ce na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo... 113
Tabela 26	Teores de La na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo... 115
Tabela 27	Teores de Nd na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo... 116

Tabela 28 Teores de Y na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo 118

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REFERENCIAL TEÓRICO	23
2.1	Elementos Terras Raras	23
2.1.1	Ocorrência e uso de elementos terras raras em fertilizantes	24
2.1.2	Aplicação de elementos terras raras em áreas agrícolas	25
2.1.3	Ocorrência de elementos terras raras e comportamento no solo	26
2.1.4	Comportamento dos elementos terras raras em plantas e efeitos no metabolismo vegetal e no crescimento	30
2.2	Fungos micorrízicos arbusculares	38
2.2.1	Características gerais e relação com elementos-traço	39
2.2.2	Micorriza arbuscular e elementos terras raras	40
3	MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1	Estudo 1: Aplicação individual de Ce, La, Nd e Y no crescimento e colonização micorrízica de milho em casa de vegetação	43
3.1.1	Caracterização e preparo do solo	43
3.1.2	Aplicação de ETRs no solo	44
3.1.3	Aplicação de ETRs no tratamento de sementes de milho	46
3.1.3.1	Teste de germinação e crescimento de plântulas em laboratório	46
3.1.3.2	Estudo em casa de vegetação	47
3.1.4	Amostragem e avaliações	48
3.1.5	Análise estatística dos dados	49
3.2	Estudo 2: Aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y no solo, na aplicação foliar ou no tratamento de sementes de milho em campo	50
3.2.1	Delineamento experimental	50
3.2.2	Aplicação do mix de ETRs e Zn e formas de aplicação	51
3.2.3	Implantação, condução do estudo e avaliações	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1	Estudo 1: Aplicação individual de Ce, La, Nd e Y no crescimento e colonização micorrízica de milho em casa de vegetação	54
4.1.1	Efeitos da aplicação de ETRs na colonização micorrízica de milho	54
4.1.2	Efeitos da aplicação de Cério (Ce) ao solo e nas sementes de milho	61

4.1.3	Efeitos da aplicação de Lantânio (La) ao solo e nas sementes de milho.....	69
4.1.4	Efeitos da aplicação de Neodímio (Nd) ao solo e nas sementes de milho.....	76
4.1.5	Efeitos da aplicação de Ítrio (Y) ao solo e nas sementes de milho.....	84
4.1.6	Teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e raízes de milho	91
4.2	Estudo 2: Aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y no solo, na aplicação foliar ou no tratamento de sementes de milho em campo	101
5	CONCLUSÕES.....	121
	REFERÊNCIAS.....	123

1 INTRODUÇÃO

O termo elementos terras raras (ETRs) refere-se aos metais de transição lantânio, cério, praseodímio, neodímio, promécio, samário, európio, gadolínio, térbio, disprósio, hólmio, érbio, túlio, itérbio e lutécio, pertencentes à série dos lantanídeos e, ainda, ao escândio e ítrio, sendo todos pertencentes à família IIIB da Tabela periódica.

A importância econômica dos ETRs é decorrente de sua ampla aplicação em vários setores industriais. Possuem aproveitamento na produção de vidros, especialmente como corantes, compõem dispositivos eletrônicos (TV de plasma, smartphones), baterias recarregáveis, lasers, carros híbridos e são utilizados ainda como conversores catalíticos e em ligas metálicas. Na medicina, são utilizados como traçadores biológicos de medicamentos, marcadores em ensaios de imunologia e agentes de contraste em ressonância magnética.

Os ETRs estão presentes em mais de 200 minerais, destacando-se como principais fontes a monazita, bastnasita e o xenotímio, que representam cerca de 95% de sua reserva mundial. Em razão das similaridades de raio iônico, esses elementos apresentam capacidade de substituir o Ca^{2+} na estrutura cristalina dos minerais que compõem as apatitas e fluoritas, principais matérias primas para a fabricação de fertilizantes fosfatados. Esse processo contribui para a presença de quantidades relevantes de ETRs nesses fertilizantes.

Em levantamento realizado nos fertilizantes brasileiros, as concentrações de ETRs atingiram até 7.806 mg kg^{-1} em fosfato natural. No superfosfato simples e superfosfato triplo, fertilizantes mais utilizados no Brasil, esse somatório alcançou $3.125,90$ e $3.289,40 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente, com maiores concentrações de Ce, La, Nd e Y. Considerando a grande utilização de fertilizantes fosfatados na agricultura brasileira, constata-se que há um

acentuado aporte de ETRs nos solos agrícolas, podendo resultar em seu acúmulo ao longo dos anos.

Na China, as pesquisas apontam que a aplicação de ETRs pode aumentar a produtividade das culturas e melhorar a qualidade final do produto. Por isso, desde a década de 70, são utilizados compostos comerciais contendo ETRs, tais como Nong Le, Chang Le, misturas em fertilizantes nitrogenados ou com micronutrientes, sendo aplicados no tratamento de sementes, aplicação foliar ou no solo e ferti-irrigação. As pesquisas chinesas ressaltam que os benefícios oriundos da aplicação de ETRs são decorrentes da melhoria no desenvolvimento de cloroplastos, aumento na atividade enzimática, no conteúdo de clorofila e, conseqüentemente, na atividade fotossintética das plantas. Entretanto, em concentrações elevadas pode ocorrer a redução do crescimento promovido pela diminuição da elongação radicular, produção de clorofilase, enzima que degrada a clorofila, desbalanço nutricional, com redução da absorção de micronutrientes como o Zn.

Os estudos sobre os efeitos dos ETRs nos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são raros. A simbiose micorrízica exerce influência marcante no comportamento de elementos traço como os ETRs e, em virtude da ocorrência generalizada desses elementos nos fertilizantes e no solo, torna-se importante conhecer a interação dos ETRs com a micorriza em solos tropicais. As pesquisas chinesas mostram resultados de alta colonização micorrízica (80%) em milho cultivado em solo enriquecido com ETRs (985,34 mg kg⁻¹) e reduções da colonização (< 60%) com a aplicação de apenas 1 mg kg⁻¹ de La, fornecendo informações contraditórias a respeito dos efeitos desses elementos na simbiose. No Brasil, ainda, não existem estudos da interação ETRs – micorriza em culturas agrícolas.

Os resultados disponíveis, tanto dos efeitos em plantas quanto na micorriza, são restritos às regiões específicas, o que impossibilita generalizações

para a realidade brasileira. A grande importância da agricultura brasileira na produção de alimentos no cenário mundial aliada ao grande aporte de ETRs nos solos agrícolas via fertilização fosfatada e a falta de conhecimento dos seus efeitos na produção vegetal mostra a grande necessidade de estudos no Brasil que avaliem possíveis efeitos nas culturas.

Nesse sentido, no presente trabalho avaliou-se o efeito de Ce, La, Nd e Y no crescimento inicial de milho, em casa de vegetação, na presença e ausência de propágulos de FMAs e da aplicação de mix desses elementos na produção de grãos de milho no campo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Elementos Terras Raras

O termo elementos terras raras (ETRs) refere-se aos metais de transição lantânio (La), cério (Ce), praseodímio (Pr), neodímio (Nd), promécio (Pm), samário (Sm), európio (Eu), gadolínio (Gd), térbio (Tb), disprósio (Dy), hólmio (Ho), érbio (Er), túlio (Tm), itérbio (Yb) e lutécio (Lu), pertencentes à série dos lantanídeos e, ainda, ao escândio (Sc) e ítrio (Y), elementos pertencentes à família IIIB da Tabela periódica. Destes, apenas o Pm não ocorre naturalmente, os demais ETRs são relativamente abundantes na crosta terrestre e, portanto, não são considerados raros. Os elementos Ce e Y são mais abundantes que o Pb, Mo e As, enquanto La e Nd ocorrem em quantidades equiparáveis ao Cu, Pb, Sn e Co (HU et al., 2006; KABATA-PENDIAS, 2011; REDLING, 2006; TYLER, 2004).

Os ETRs apresentam-se no estado de oxidação trivalente, no entanto, formas tetravalentes, para o Ce^{4+} e bivalentes, para o Eu^{2+} , também podem ocorrer (REDLING, 2006). No estado de oxidação trivalente, o raio iônico dos ETRs reduz conforme aumenta o número atômico, ou seja, diminui gradualmente do La^{3+} (103,1 pm) ao Lu^{3+} (86,1 pm), já o raio iônico do Y é similar ao do Ho (90 pm) (TYLER, 2004).

De acordo com o raio iônico, massa atômica e características químicas, os ETRs são divididos em dois grupos: leves e pesados. Os ETRs leves são compostos por elementos mais básicos, mais solúveis e mais móveis, que apresentam massa atômica menor que 153 u, raio iônico efetivo maior que 95 pm e compreende os elementos do La ao Gd. Os ETRs pesados são aqueles elementos com massa atômica maior que 153 u, raio iônico efetivo menor que 95 pm e compreende os elementos do Tb ao Lu. O Y, apesar de apresentar

massa atômica menor que 153 u, é frequentemente incluído no grupo de ETRs pesados em razão da similaridade de seu raio iônico com os demais elementos desse grupo (KABATA-PENDIAS, 2011; TYLER, 2004).

2.1.1 Ocorrência e uso de elementos terras raras em fertilizantes

Além de fornecer nutrientes às plantas, os fertilizantes e condicionadores de solo são veículos de diversos elementos-traço (KABATA-PENDIAS, 2011; OTERO et al., 2005), os quais podem se acumular em longo prazo no solo e interferir no desenvolvimento das plantas. Além de metais pesados, os ETRs têm sido frequentemente encontrados em fertilizantes fosfatados e condicionadores de solo (TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011), porém, seus efeitos no sistema solo-planta são ainda pouco conhecidos. Os ETRs possuem a capacidade de substituir o Ca^{2+} na estrutura cristalina dos minerais que compõem as apatitas e fluoritas (HU et al., 2006), as quais constituem as principais matérias primas para a fabricação de fertilizantes fosfatados.

O processo produtivo de fertilizantes no Brasil não inclui a recuperação de ETRs, assim, altas concentrações são encontradas em produtos e subprodutos destes fertilizantes (DINALI, 2014). As maiores concentrações de ETRs têm sido encontradas nos fertilizantes fosfatados com menor processamento, tais como os termofosfatos e fosfatos naturais, apresentando somatório de ETRs de até 3.190 e 7.806 mg kg^{-1} , respectivamente (DINALI, 2014; TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011). Contudo, mesmo os fertilizantes com maior nível de processamento apresentam concentrações consideráveis desses elementos, variando de 1.125,9 no MAP a 3.289,40 mg kg^{-1} no superfosfato triplo (DINALI, 2014). A quantidade de fósforo nos fertilizantes, também, tem apresentado alta correlação com a presença de ETRs, que é reforçada pela ausência desses elementos em formulados NPK sem adição de fertilizantes

fosfatados (DINALI, 2014; MOREIRA, 2014; OTERO et al., 2005). O Ce destaca-se como ETR mais abundante nos fertilizantes com concentrações variando de 256,1 a 3.547,9 mg kg⁻¹, seguido do La, Nd, e Y. Os ETRs leves são predominantes e podem representar até 92% do somatório total desses elementos nos fertilizantes (DINALI, 2014; MOREIRA, 2014; OLIVEIRA et al., 2012).

A ocorrência dessas altas concentrações de ETRs nos fertilizantes fosfatados, aliada à sua aplicação contínua, pode resultar, em longo prazo, no acúmulo desses elementos no solo. Em área agrícola brasileira, a aplicação contínua de fertilizantes fosfatados, durante 8 anos, aumentou 89% do teor de La e 44% do de Ce em algodoeiro. Em batata, cultura com alta demanda em P, esse aumento atingiu 81% para La e 111% para Ce (MOREIRA, 2014). Esse aumento nos teores de ETRs no solo pode interferir no desenvolvimento e na produtividade das culturas agrícolas, fazendo-se necessário o estudo desses possíveis efeitos.

2.1.2 Aplicação de elementos terras raras em áreas agrícolas

A aplicação dos ETRs em áreas agrícolas é uma prática comum na China desde a década de 70, onde alguns compostos comerciais são amplamente utilizados nessas áreas (PANG; LI; PENG, 2002; TYLER, 2004; XU et al., 2002). Atualmente, os produtos de ETRs comercializados compreendem nitratos ou cloretos de ETRs, fertilizantes com ETRs misturados a outros elementos-traço, fertilizantes com ETRs misturados a bicarbonato de amônio, e compostos de ETRs misturados com aminoácidos (MAR) (PANG; LI; PENG, 2002). Os produtos Chang Le e Nong Le têm-se destacado como fertilizantes de ETRs. Nong Le, o primeiro fertilizante de ETRs produzido, é composto por um complexo solúvel de cloreto de ETRs. Chang Le, atualmente o principal fertilizante de ETRs, é composto por nitrato de ETRs, apresentando 49-51% de

Ce, 25-28% de La, 15-17% de Nd e 5-6% de Pr. A aplicação de Chang Le, depende da cultura, do estágio de desenvolvimento, e varia entre cerca de 400 e 675 g ha⁻¹ aplicados via foliar (REDLING, 2006; WEN et al., 2001).

Os produtos à base de ETRs são, comumente, aplicados no tratamento de sementes ou em aplicações foliares durante o crescimento das culturas. Aplicações diretas no solo podem não apresentar efeitos ou obter resultados limitados e, por isso, é menos preconizada (TYLER, 2004; WEN et al., 2001). Há ainda possibilidade da aplicação de ETRs por meio de ferti-irrigação (XU et al., 2002).

Na China, em 2001, foram aplicados 11 mil toneladas de ETRs, na forma de cloretos ou nitratos, em 6,5 milhões de hectares, via aplicação foliar, tratamento de sementes ou adicionados ao solo na forma sólida ou líquida em mais de 100 espécies agrícolas (HU et al., 2004, 2006). Entretanto, no Brasil, assim como em muitos outros países, não existem recomendações do uso de ETRs como fertilizantes (TURRA; FERNANDES; BACCHI, 2011), mesmo porque não há estudos sobre os efeitos da aplicação de ETRs em culturas agrícolas.

2.1.3 Ocorrência de elementos terras raras e comportamento no solo

Diversos fatores podem influenciar a ocorrência de ETRs no solo e na crosta terrestre e o material de origem constitui-se em um dos principais. Hu et al. (2006) destacam que o teor desses elementos no solo reduz na seguinte ordem: granito > materiais do Quaternário > basalto > arenito roxo > arenito vermelho. Entretanto, adições, via fertilização fosfatada ou por deposição atmosférica, também, podem ocorrer (MOREIRA, 2014; VOLOKH et al., 1990).

A concentração dos ETRs na crosta terrestre diminui à medida que aumenta o seu peso atômico e a sua abundância na crosta terrestre segue a regra de Oddo-Harkins, em que os elementos de número atômico par são mais abundantes que seus vizinhos de número atômico ímpar (KABATA-PENDIAS, 2011). Os ETRs ocorrem na forma de óxidos, silicatos, carbonatos, fosfatos e compostos halogênicos em minerais (TYLER, 2004). Mais de 200 minerais conhecidos contêm ETRs, entretanto, as principais fontes desses elementos são a monazita (La, Ce-PO₄), bastnasita (CeF-CO₃), cheralita (La, Ce, Y-PO₄), euxenita (Y, Nd-TiO₆.H₂O) e xenotímio (YPO₄*). A monazita é, frequentemente, associada a rochas fosfáticas, o que explica as altas concentrações de ETRs nos fertilizantes fosfatados. Atualmente, a bastnasita constitui a principal fonte para a produção industrial de ETRs e, portanto, é de grande importância comercial. Por outro lado, a monazita, também representa importante fonte mineral por ser prontamente disponível e conter cerca de 50% do seu peso em ETRs. Esses dois minerais representam cerca de 95% das fontes minerais de ETRs atualmente utilizadas (KABATA-PENDIAS, 2011; REDLING, 2006; TYLER, 2004).

A quantidade individual de cada ETR pode variar entre as fontes minerais, porém, em virtude da similaridade de raio iônico e do estado de oxidação, esses elementos não são encontrados de maneira isolada nos minerais, ou seja, nenhum mineral apresenta apenas um, mas sim vários ETRs associados (REDLING, 2006; TYLER, 2004). A presença de ETRs em minerais, como a apatita, ocorre por causa da frequente substituição isomórfica do Ca²⁺ pelos ETRs, que apresentam raio iônico bastante semelhante a este nutriente (HU et al., 2006).

No solo, o teor, as transformações e as distribuições nas várias frações de ETRs estão estreitamente relacionadas a propriedades físico-químicas e mineralógicas do solo como textura, pH, conteúdo de matéria orgânica, CTC, quantidade de óxidos de Fe amorfos, de fosfatos e de sulfetos no solo (GU et al.,

2001; HU et al., 2006; LIANG et al., 2005; TYLER, 2004).Esses mesmos fatores influenciam as diferentes frações de ETRs no solo, frações essas divididas em solúvel em água, trocável, ligada a carbonatos, sulfetos, óxidos de Fe e Mn, bem como ligados à matéria orgânica ou em formas residuais estáveis no solo (HU et al., 2006; WANG;SHAN; ZHANG, 2001). Dentre estas, as duas primeiras encontram-se prontamente disponíveis para absorção pelas plantas (ZHANG; SHAN, 2001), sendo as demais frações menos disponíveis (REDLING, 2006).

Os solos arenosos apresentam menores concentrações que os solos argilosos(KABATA-PENDIAS, 2011). Além disso, os ETRs leves são mais abundantes no solo que os ETRs pesados (EL-RAMADY, 2011; TYLER, 2004). Este fato foi observado em solos brasileiros, onde a concentração de ETRs foi maior em Argissolo e Latossolo em detrimento do Neossolo, com somatório de ETRs variando de 51 a 182 mg kg⁻¹ e predominância de ETRs leves.Independentemente do tipo de solo, a abundância de ETRs tende a decrescer na ordem Ce > La > Nd > Y>Pr>Sm>Gd>Dy>Er> Yb > Eu > Tb > Ho >Tm> Lu (HU et al., 2006).

A grande diversidade de componentes orgânicos do solo produzidos por microrganismos e plantas interfere no comportamento dos ETRs no solo. A matéria orgânica, por apresentar alta densidade de cargas negativas, possui alta capacidade de adsorção ou qual ação de cátions divalentes e trivalentes (TYLER, 2004; WU et al., 2001), interferindo na disponibilidade de ETRs no solo (TYLER; OLSSON, 2005). Nesse processo, os grupos carboxílicos da matéria orgânica são relatados como principais responsáveis pela adsorção de ETRs, tais como La³⁺, Ce³⁺ e Sm³⁺ (GU et al., 2001).

O pH da solução está estreitamente relacionado com a solubilidade de ETRs no solo (TYLER, 2004). O aumento do pH reduz a disponibilidade de ETRs na solução do solo, em virtude de sua precipitação com carbonatos (HU

et al., 2006). Para elementos como Pr, Gd, Dy, Er e Tm a redução da disponibilidade pode ser mais limitada a faixas específicas de pH, enquanto para Ce, Sm, Eu, Yb e Lu, essa redução é mais gradual e contínua (CAO et al., 2001; TYLER; OLSSON, 2001, 2005). Por outro lado, a redução do pH do solo aumenta a solubilidade desses elementos e pode aumentar as perdas de ETRs no perfil por lixiviação e processos de intemperismo (CAO et al., 2001; KABATA-PENDIAS, 2011; PANG; LI; PENG, 2002; TYLER, 2004), especialmente em solos altamente intemperizados e com baixa CTC, como ocorre no Brasil.

A disponibilidade de ETRs no solo é, ainda, afetada pelo processo de adsorção e, assim como observado para outros elementos-traço, tal processo é fortemente influenciado pelo pH, força iônica da solução e mineralogia do solo. Minerais como rutilo, hematita, gibbsita e sílica, predominantes nos solos brasileiros, apresentam alta afinidade e, portanto, alta capacidade de adsorção desses elementos (PIASECKI; SVERJENSKY, 2008). Em contrapartida, a dessorção de ETRs no solo tem sido relatada como baixa, uma vez que a capacidade máxima de adsorção é bastante superior ao processo de dessorção (REDLING, 2006). Li et al. (2001) mostraram que, enquanto a adsorção de Ce^{3+} ocorreu em 30 segundos, sua dessorção chegou a levar 30 minutos para se completar, evidenciando que sua biodisponibilidade decresce rapidamente com o tempo.

Em condições tropicais, como no Brasil, a alta precipitação e os solos altamente intemperizados com elevada acidez podem promover maior solubilidade de ETRs, aumentando sua disponibilidade para as plantas ou perdas por lixiviação. Por outro lado, os solos brasileiros são ricos em óxidos de Fe amorfos, característica esta que pode contribuir para a adsorção de ETRs, contribuindo para sua permanência no solo.

2.1.4 Comportamento dos elementos terras raras em plantas e efeitos no metabolismo vegetal e no crescimento

Os ETRs podem ser absorvidos pelas plantas, mesmo em condições de baixa disponibilidade no solo e as taxas de absorção tendem a diminuir, conforme a redução do raio iônico, que ocorre do La ao Lu (BROWN et al., 1990). A absorção de ETRs ocorre pelas raízes, contudo, pode acontecer também nas folhas, por meio dos estômatos e da cutícula (EL-RAMADY, 2011).

As taxas de absorção de ETRs pelas raízes tendem a ser superiores às taxas de translocação para a parte aérea (HU et al., 2002), o que contribui para altas concentrações desses elementos nas raízes em detrimento da parte aérea. Em arroz e ervilha, depois da absorção, o Yb^{3+} acumulou-se inicialmente na endoderme, no xilema e em menor grau nas células do córtex, enquanto o La^{3+} acumulou-se, principalmente no xilema e no ápice radicular (ISHIKAWA; WAGATSUMA; IKARASHI, 1996).

Após a absorção, os ETRs podem ser translocados na planta tanto das raízes para as folhas, quando aplicados no solo, quanto das folhas para as raízes, quando aplicados via foliar. A translocação desses elementos na planta, mesmo que baixa, é comprovada pelo seu acúmulo em outras partes das plantas, tais como caule, folhas, flores e grãos (WANG et al., 2001). Em trigo, a absorção de ETRs foi superior quando aplicados nas folhas. Nas aplicações em solo, a translocação para a parte aérea seguiu a seguinte ordem: $\text{Nd} > \text{Ce} > \text{Y} > \text{La}$ (HU et al., 2004). Em milho submetido à aplicação de ETRs (Sc, Y e lantanídeos) no solo, a translocação dos ETRs leves para a parte aérea foi rápida, especialmente em menores dosagens do fertilizante (2 kg ha^{-1}) (XU et al., 2002).

As baixas taxas de translocação desses elementos resultam em baixas concentrações na parte aérea das plantas, com exceção das hiperacumuladoras, tais como pteridófitas, musgos, líquens e briófitas. A concentração de ETRs nas

plantas decresce à medida que aumenta o número atômico, seguindo a regra de Oddon-Harkins, assim como no solo (KABATA-PENDIAS, 2011; REDLING, 2006). Os ETRs podem se acumular, tanto intracelular, quanto extracelularmente (BROWN et al., 1990), embora La e Nd apresentem dificuldade de ultrapassar a membrana plasmática e, por isso, são frequentemente encontrados na superfície externa de células (HU et al., 2004).

Plantas acumuladoras, como as pteridófitas, podem apresentar até 40 mg kg⁻¹ de La e 30 mg kg⁻¹ de Ce na parte aérea, enquanto plantas não acumuladoras atingem 2,7 e 3,6 mg kg⁻¹ de La e Ce, respectivamente (OZAKI et al., 2002). No Brasil, em áreas com ocorrência de sienito, rocha com elevado teor de ETRs, as plantas acumuladoras apresentaram teor total desses elementos de 61,07 a 559,86 mg kg⁻¹ (CUNHA; NARDI; FORMOSO, 2010). Já as espécies agrícolas apresentam menor capacidade de acumulação de ETRs em sua biomassa quando comparadas às plantas acumuladoras. Em milho, a aplicação de 50 mg kg⁻¹ de mix de ETRs no solo promoveu acúmulo total de 5,26 mg kg⁻¹ na parte aérea (XU et al., 2003). Apesar de inúmeros estudos mostrarem aumento da produção de grãos pela aplicação de ETRs, as informações do acúmulo desses elementos em grãos são escassas. Os relatos do acúmulo total de ETRs, em grãos de milho, varia de 19,13 µg kg⁻¹ (ZHANG; RUI, 2011) a 430µg kg⁻¹ (WANG et al., 2001). Desse acúmulo total, 18-23% são constituídos por La, 41-44% Ce e 20-21% Nd.

O acúmulo de ETRs, nas diferentes partes vegetais, varia com o estágio de crescimento, entretanto, essa concentração tende a decrescer na ordem de raízes > folhas > caules > grãos/frutos). Espécies agrícolas apresentam diferentes habilidades em acumular ETRs entre si. Li et al. (1998) observaram que, em milho e arroz, apenas Ce, La, Nd, Pr e Y foram acumulados, estando os demais abaixo do nível de detecção. Além disso, o arroz apresentou maiores concentrações de ETRs que o milho, demonstrando sua maior capacidade em acumular esses elementos.

O acúmulo desses elementos, em raízes, caules, folhas e grãos, pode interferir no desenvolvimento das plantas. Entretanto, as funções bioquímicas dos ETRs no metabolismo vegetal ainda não estão devidamente esclarecidas e carecem de estudos. Por isso, apesar das pesquisas mostrarem efeitos benéficos da aplicação de ETRs em plantas, esses elementos ainda não foram comprovados como essenciais ou benéficos às plantas (KABATA-PENDIAS, 2011). Por outro lado, assim como outros elementos-traço, os ETRs podem ser tóxicos ou exercer efeitos negativos em plantas sob condições de alta concentração e disponibilidade no solo (TYLER, 2004).

Os efeitos da aplicação de ETRs no crescimento de plantas são verificados em diferentes formas de aplicação. A aplicação individual de Ce ($0,280 \text{ mg L}^{-1}$) e La ($0,278 \text{ mg L}^{-1}$) em solução nutritiva reduziu a elongação radicular de milho e feijão-mungo (DIATLOFF; SMITH; ASHER, 1995a, 1995b). Com o ajuste da dose de Ce para $0,088 \text{ mg L}^{-1}$, a elongação radicular do milho duplicou, entretanto, esse aumento não se refletiu no incremento de matéria seca de raízes (DIATLOFF; SMITH; ASHER, 1995c). A redução da elongação radicular, também, foi observada em arroz e ervilha após a aplicação individual de $2,78$ e $3,46 \text{ mg L}^{-1}$ de La e Yb, respectivamente, em solução nutritiva (ISHIKAWA; WAGATSUMA; IKARASHI, 1996). No tratamento de sementes com 10 mg L^{-1} de mix de ETRs (La, Ce, Sm, Gd e Nd) foi verificado aumento de 26% na matéria seca de parte aérea e 60% no crescimento de raízes de amendoim (EMMANUEL et al., 2010a). Em milho, o tratamento de sementes com Ce (20 mg L^{-1}) promoveu aumento de 25% da produção de grãos em campo, o equivalente a um incremento de 31 sc ha^{-1} (ESPINDOLA; MENEZES; BARBIERI, 2013). Adições no solo, também, apresentaram resultados positivos. A aplicação de $2,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ce no solo aumentou 78% o crescimento de parte aérea e de 107% o crescimento radicular das plantas de amendoim (SHYAM; AERY, 2012). Em campo, a aplicação de 10 kg ha^{-1} de mix de ETRs no solo

promoveu aumento de 5% na produção de grãos, aumento esse correspondente a 8 sc ha⁻¹ (XU; WANG, 2007). Apesar de evidentes os efeitos, independentemente da forma de aplicação, os mecanismos fisiológicos relacionados ao aumento de produção e crescimento de plantas sob a aplicação de ETRs necessita de mais estudos.

Embora não haja evidências claras que mostrem que os ETRs sejam essenciais ao crescimento de plantas, estudos mostram que a sua influência no metabolismo vegetal inclui benefícios na absorção e assimilação de nutrientes. E, assim como é frequentemente observado com alguns nutrientes, relações antagonistas também são descritas.

Em uma compilação de estudos, Redling (2006) demonstrou efeitos positivos e negativos dos ETRs na absorção de nutrientes pelas plantas. Aumentos na absorção de P variaram de 10,34 a 12,3% em culturas como tomate, arroz, trigo, pepino e soja. Aplicações de Ce e La também incrementaram 8,5 a 15,42% a absorção de K em arroz, cevada e tomate.

Dentre os efeitos dos ETRs, na absorção de nutrientes, destacam-se aqueles semelhantes aos exercidos pelo Ca²⁺, o que ocorre pela similaridade do raio iônico desses elementos. O raio iônico dos ETRs varia de 9,6 a 11,5 pm, bastante semelhante ao Ca, com raio de 9,9 pm. Então, bem como ocorre entre o Rb⁺ e o K⁺, os íons de ETRs, principalmente, o La³⁺, podem se ligar aos sítios de absorção do Ca²⁺ e alterar a absorção e translocação desse nutriente na planta. (BROWN et al., 1990; HU et al., 2004; TYLER, 2004). De forma menos reversível que o Ca²⁺, o La³⁺ pode se ligar aos fosfolipídios, deslocando esse nutriente dos seus sítios de ligação na membrana plasmática. O mesmo ocorre com o Tb³⁺, que pode competir com o Ca²⁺ nos sítios de ligação localizados nas proteínas da membrana plasmática. A competição com o Ca²⁺ na absorção pode ocorrer com todos os ETRs, entretanto, tal processo tem sido mais relatado para o La³⁺, sendo, por isso, denominado como supercálcio (BROWN et al., 1990).

Em virtude dessa forte interação, o La^{3+} pode interferir em várias funções fisiológicas do Ca^{2+} , incluindo os seus efeitos tóxicos (PANG; LI; PENG, 2002). O La^{3+} pode alterar a translocação de Ca^{2+} na planta e comprometer a estabilidade e funcionalidade das membranas celulares (HU et al., 2004; TYLER, 2004; WANG et al., 2012a, 2012b).

À semelhança do Ca^{2+} , os ETRs, com destaque para o La^{3+} , podem interferir na absorção de nutrientes, promovendo redução da absorção de Mg, Ke Zn (HU et al., 2004). A aplicação individual de Ce e La (25 mg L^{-1}), via solução nutritiva, reduziu o teor foliar de Ca, Mg, K e Cu em trigo (HU et al., 2002). Ainda, em solução nutritiva, aplicação de dose inferior de La (8 mg L^{-1}) em *Vicia faba* reduziu 44% do teor foliar de Ca, 33% de Mg, 29% de Fe e 7% de Mn. Contudo, mostrou sinergismo com o P, aumentando em 6% seu teor nas folhas (WANG et al., 2012b). Em feijão-mungo, o fornecimento de $0,027 \text{ mg L}^{-1}$ de Ce na solução nutritiva, além de afetar o crescimento das plantas, reduziu a absorção de Mn, causando sintomas de deficiência nas folhas (DIATLOFF; SMITH; ASHER, 1995c). Nas aplicações no solo, os efeitos de ETRs, na absorção de nutrientes, também, são semelhantes. Em *Astragalus sinicus*, a aplicação de 20 mg L^{-1} de La no solo reduziu 34, 47 e 32% do teor de K, Ca e Mg, respectivamente. Esse antagonismo foi mais pronunciado nos teores foliares de micronutrientes, onde houve reduções de 65, 67 e 48% de Cu, Zn e Fe, respectivamente (CHEN; ZHAO, 2009). Os diferentes resultados destacam a complexidade dos efeitos dos ETRs na nutrição mineral de plantas, mostrando que esses elementos podem afetar diretamente os processos fisiológicos ligados às funções dos nutrientes no metabolismo e, assim, interferir no crescimento.

Existem muitas informações disponíveis acerca dos efeitos fisiológicos dos ETRs em plantas, particularmente na estabilidade de membranas, estresse oxidativo, balanço hormonal e assimilação de nutrientes.

Processos metabólicos, tais como respiração e fotossíntese, levam à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) em mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos. Tais compostos causam danos oxidativos em proteínas, DNA, lipídeos e prejudicam a integridade das membranas celulares (APEL; HIRT, 2004). Alguns estudos apontam que os ETRs podem atuar no estresse oxidativo da planta, amenizando os danos causados. O La^{3+} pode impedir a transferência de elétrons do NADH para o oxigênio e, com isso, reduzir a produção de ROS (OH^\cdot e H_2O_2) causada por estresse osmótico em trigo (ZENG et al., 1999). Para Ce^{3+} , outros mecanismos foram observados em plantas de soja sob estresse oxidativo causado pela exposição à radiação UV-B. O Ce^{3+} aprimorou a atividade das enzimas ligadas ao sistema de defesa antioxidante da planta, tais como catalase e superóxido dismutase. Ainda, relata-se que o Ce, na forma trivalente ou tetravalente, pode exercer a função da superóxido dismutase, por meio da doação de elétrons ao O_2^\cdot ($\text{Ce}^{3+} + \cdot\text{O}_2^- \rightarrow \text{Ce}^{4+} + \text{O}_2$; $\text{Ce}^{4+} + \cdot\text{O}_2^- \rightarrow \text{Ce}^{3+} + \text{H}_2\text{O}_2$) e, assim, proteger os cloroplastos contra os danos oxidativos (LIANG; ZHANG; ZHOU, 2011; WANG; GUO; CHENG, 1997). Os benefícios dos ETRs, na amenização do estresse oxidativo, podem proteger organelas de grande importância para o metabolismo vegetal, como as mitocôndrias e os cloroplastos, e evitar a peroxidação lipídica, protegendo as membranas celulares.

Em alguns casos, foi relatado aumento da atividade de enzimas ligadas ao sistema antioxidante em plantas submetidas à aplicação de ETRs. Em amendoim e milho, a adição de ETRs, individual ou mix, aumentou a produção de H_2O_2 e, conseqüentemente, a atividade das enzimas superóxido dismutase, peroxidase, catalase e ascorbatoperoxidase (EMMANUEL et al., 2010a; ZHAO et al., 2012). É possível que, em elevadas concentrações, os ETRs podem atuar na via não enzimática da peroxidação lipídica das membranas. Tal processo é comprovado para outros metais de transição, como Fe^{2+} e Cu^{2+} , que catalisam a formação de radicais livres como alcoxila, peroxila e hidroxila a partir de

hidroperóxidos, que são produzidos na peroxidação dos ácidos graxos polinsaturados da membrana plasmática (LIMA; ABDALLA, 2001).

Outras enzimas do metabolismo vegetal podem ser influenciadas pelos ETRs. Aumento na atividade de enzimas responsáveis pela assimilação de nitrogênio na planta, tais como nitrato redutase, glutamina sintetase, glutamato sintase e glutamato desidrogenase foram estimuladas em soja e feijão-caupi, submetidos ao tratamento de sementes com La (20 mg L^{-1}) e crescimento em solução nutritiva com Ce ($2,5 \text{ mg L}^{-1}$), respectivamente (HUANG; WANG; ZHOU, 2013; SHYAM; AERY, 2012). Assim, pela melhoria na atividade enzimática, os ETRs podem atuar, indiretamente, no aumento da assimilação de N, melhorando a nutrição mineral das plantas.

De forma similar ao Ca^{2+} , melhorias na estabilidade e funcionalidade de membranas têm sido relacionadas à aplicação de ETRs em plantas. O La tem se destacado dentre os ETRs em restringir o fluxo de eletrólitos nas membranas, alterando suas características, principalmente a fluidez (EL-RAMADY, 2011; REDLING, 2006). A redução na penetrabilidade das membranas celulares pode ocorrer pela formação de complexos estáveis entre os ETRs, como o La^{3+} , com macromoléculas, presentes na membrana plasmática, como ácidos fosfoglicéricos, fosfolipídios e proteínas (EL-RAMADY, 2011). Em contrapartida, em concentrações elevadas, os ETRs podem exercer efeitos tóxicos e comprometer as funções fisiológicas do Ca^{2+} na célula. Em plantas de arroz e ervilha, a absorção de Yb^{3+} e La^{3+} comprometeu a permeabilidade da membrana plasmática em grande parte das células radiculares (ISHIKAWA; WAGATSUMA; IKARASHI, 1996). Com o comprometimento da estabilidade e permeabilidade das membranas, os ETRs podem causar efluxo de nutrientes e outros metabólitos importantes ao funcionamento adequado da célula. A presença de La^{3+} no metabolismo vegetal pode ainda inibir proteínas como as

quinases dependentes de Ca^{2+} (calmodulina, por exemplo) (BROWN et al., 1990).

Os incrementos de produção alcançados pela aplicação de ETRs são, frequentemente, relacionados ao aumento da taxa fotossintética das plantas. Benefícios da aplicação de ETRs, tais como promoção do desenvolvimento dos cloroplastos, fotossistemas I e II, aumento do conteúdo de clorofila e estímulo à atividade enzimática (HONG et al., 2002; HONG; WEI; ZHAO, 2002; HU et al., 2004; LIANG; ZHANG; ZHOU, 2011) são citados como responsáveis pelo aumento da taxa fotossintética.

As pesquisas chinesas destacam que, em concentrações adequadas, o Ce^{3+} pode catalisar a formação de clorofila a partir de seu precursor, a protoclorofila (HONG et al., 2002) ou ainda substituir o Mg^{2+} presente no centro da molécula de clorofila, dando origem à molécula Ce-clorofila. Existem relatos da substituição do Mg na molécula da clorofila por outros ETRs, como La, Nd e Y, trazendo benefícios, principalmente, sob deficiência de Mg^{2+} (GONG et al., 2011a; HONG; WEI; ZHAO, 2002; SHEN; KANG; JIN, 1999; WEI et al., 2005). O aumento no conteúdo de pigmentos fotossintéticos é relatado em muitas espécies vegetais. Incrementos de até 53% em clorofila *a* e 22% em clorofila *b* foram observados em milho submetido à aplicação de mix de ETRs (EMMANUEL et al., 2010b). Em amendoim, constatou-se aumento de 17% no conteúdo de clorofila total e 9% no conteúdo de carotenoides totais (EMMANUEL et al., 2010a). Em concentrações tóxicas, a aplicação de ETRs pode estimular a produção da clorofilase, enzima responsável pela degradação da clorofila, o que provoca danos ao aparato fotossintético e, por consequência, prejuízos à atividade fotossintética, assim como mostrado por Shyam e Aery (2012) em amendoim.

O comportamento dos ETRs, em plantas, na maioria dos estudos realizados, parece exercer efeito hormese no crescimento e demais parâmetros

fisiológicos e bioquímicos em plantas (WANG et al., 2012b; ZENG et al., 2006). Nesse caso, a hormese se refere à ocorrência de resposta da planta às doses de ETRs. É, usualmente, representada por curvas em “U invertido”, com estímulo em doses baixas e inibição em doses altas, ou em forma de “J”, com inibição em doses baixas e estímulo em doses altas (CALABRESE; BALDWIN, 2003). Nesse sentido, é possível inferir que, em baixas concentrações, a aplicação de ETRs em plantas pode estimular o metabolismo vegetal e, por consequência, a produção das culturas. No entanto, as doses e formas de aplicação ideais para beneficiar a produção vegetal ainda não estão definidas e carece de estudos, especialmente no Brasil.

2.2 Fungos micorrízicos arbusculares

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) possuem ocorrência generalizada, em todos os ecossistemas, onde exercerem múltiplos papéis no funcionamento do solo (GIANINAZZI et al., 2010; HEIJDEN et al., 1998). Esses fungos, pertencentes ao filo Glomeromycota, englobam fungos asseptados que formam uma relação simbiótica mutualística com mais de 80% das famílias de plantas vasculares, além de alguns representantes das Pteridófitas e Briófitas (PARNISKE, 2008; SCHÜBLER; WALKER, 2010). Ao contrário de fungos saprófitos, os FMAs são biotróficos obrigatórios e, por isso, dependem do estabelecimento da simbiose para completar seu ciclo de vida. Dessa forma, a planta supre o fungo com foto-assimilados, enquanto o fungo, por sua vez, beneficia a planta com processos diversos, dentre estes o aumento na absorção de nutrientes (PARNISKE, 2008; SIQUEIRA; KLAUBERG-FILHO, 2000).

Os benefícios dos FMAs às plantas podem decorrer de efeitos nutricionais e não-nutricionais e, por isso são divididos em ações biofertilizante, biorreguladora e bioprotetora. A função biofertilizante é a principal e as demais

são secundárias e decorrentes dos efeitos da primeira. Como função biofertilizante, os FMAs podem atuar na absorção e aumento da eficiência de absorção e de utilização de nutrientes. Na função biorreguladora, os FMAs podem favorecer a produção de substâncias de crescimento e alterações bioquímicas e fisiológicas em plantas. Pela ação biocontroladora, os FMAs melhoram a agregação do solo, reduz estresses bióticos e abióticos, como excesso de elementos-traço no solo (SIQUEIRA; KLAUBERG-FILHO, 2000).

2.2.1 Características gerais e relação com elementos-traço

Em relação aos elementos traço, os FMAs podem aumentar sua absorção pela planta, quando estes apresentam baixa disponibilidade ou reduzi-la quando há excesso. Dessa forma interferem diretamente na mobilização e imobilização de elementos-traço, influenciando diretamente em sua disponibilidade às plantas (MOREIRA et al., 2015).

Por outro lado, concentrações elevadas de elementos-traço, apesar de não eliminar completamente a colonização micorrízica, podem afetar quantitativa e qualitativamente a comunidade micorrízica do solo. Entretanto, a capacidade adaptativa dos FMAs a tal situação não se restringe a gêneros ou espécies específicas de plantas, ocorrendo de forma generalizada (MEHARG, 2003). O excesso de elementos-traço no solo pode prejudicar a germinação de esporos, o crescimento micelial a colonização micorrízica (SOARES et al., 2006; ZAREI et al., 2008). Em alguns casos, a presença de elementos-traço em excesso pode ser mais tóxica à planta que aos FMAs. Em excesso de As de até 220 mg kg⁻¹, concentração tóxica para a maioria das plantas, nenhuma redução ocorreu na germinação de esporos de *Funneliformis caledonium* (GONZALEZ-CHAVEZ et al., 2002a). Assim, os FMAs são, indiretamente, prejudicados pelo excesso de elementos-traço no solo pela redução do

crescimento das plantas e, conseqüentemente, de sua capacidade de manter a simbiose micorrízica.

Assim como outros microrganismos do solo, os FMAs desenvolveram mecanismos que influenciam na disponibilidade de elementos-traço às plantas. Esses mecanismos incluem: I. adsorção de metais à superfície da parede celular (biosorção); II. Transporte e incorporação intracelular (bioacumulação); III. Transformação de metais por meio de reações de redução, oxidação ou metilação. Adicionalmente, transportadores de membranas nos arbúsculos de FMAs podem carrear os metais até a zona de contato entre a membrana plasmática do fungo e da célula vegetal, e sua subsequente incorporação aos tecidos vegetais (MEIER et al., 2012). Os FMAs podem ainda acumular metais na glomalina, uma glicoproteína recalcitrante, produzida pelas hifas extraradiculares (RILLIG; STEINBERG, 2002). Estudos recentes demonstraram a alta capacidade desta glicoproteína no acúmulo de Cu, Cd, Pb e Zn (GONZALEZ-CHAVEZ et al., 2002b, 2004; MEIER et al., 2012).

2.2.2 Micorriza arbuscular e elementos terras raras

Existem evidências de que os microrganismos do solo aumentam a disponibilidade de ETRs em solução do solo. Diversos microrganismos possuem capacidade de biosorção de íons ETRs, tais como La^{3+} , Eu^{3+} , Gd^{3+} , Yb^{3+} , Pr^{3+} , Nd^{3+} , Dy^{3+} e Sc^{3+} (ANDRES et al., 2000; ANDRES; TEXIER; LE CLOIREC, 2003). Hifas de fungos e raízes de plantas que recobrem a superfície de fosfatos de ETRs produzem ácido oxálico/oxalato e outros compostos, que atuam como solubilizante desses minerais. Ainda, pode ocorrer, inicialmente, complexação dos ETRs em compostos orgânicos produzidos por microrganismos e, posteriormente, liberação destes para a solução do solo (KOELE et al., 2014; TYLER, 2004). Os efeitos dos ETRs podem ser diferenciados entre os grupos de

microrganismos do solo, podendo interferir quantitativa e qualitativamente à comunidade microbiana do solo. Concentrações de até 700 mg kg⁻¹ de mix de ETRs (La, Ce, Nd e Lu) estimularam a microbiota fúngica do solo, os quais apresentaram maior tolerância às maiores concentrações que bactérias e actinomicetos (TANG et al., 2004).

Informações da influência dos ETRs, na simbiose micorrízica, são muito escassas, visto que são encontrados na literatura apenas 4 trabalhos publicados (CHEN; ZHAO, 2007; GUO et al., 2013a) e alguns ainda estão na língua chinesa.

Em cravo-de-defunto, a inoculação com FMAs reduziu a absorção de Sc e, após 21 dias, aumentou a absorção de Y pelas plantas. A taxa de colonização observada foi de 46% (SUZUKI et al., 2000). Chen e Zhao (2007) avaliaram a aplicação de doses de La (0, 1, 5, 10 e 20 mg kg⁻¹) em *Astragalus sinicus* inoculado individualmente com *Gigaspora margarita*, *Rhizophagus intraradices* e *Acaulospora laevis*. Dentre os FMAs, *G. margarita* foi a espécie menos afetada pela adição de La, com redução da colonização somente em 20 mg kg⁻¹ de La. As demais espécies foram expressivamente afetadas, especialmente *A. laevis*. Além disso, plantas inoculadas com *G. margarita* apresentaram maior crescimento radicular e de parte aérea e maior absorção de La em relação ao controle (ausência de La e de inoculação). Ainda, no mesmo estudo, Chen e Zhao (2009) verificaram que, apesar da aplicação de La reduzir a absorção de K, Ca, Mg, Cu, Zn, Fe e Mn, as plantas micorrizadas tiveram expressivamente maior absorção destes.

Em solo proveniente de área de mineração, com elevado teor de ETRs, a colonização de milho e sorgo, chegaram a 77 e 80%, respectivamente, com maior colonização de *Glomus versiforme* em relação ao *Funneliformis mosseae*. Além disso, apenas *G. versiforme* foi eficiente em aumentar a produção de matéria seca de parte aérea e raízes, em ambas as espécies vegetais. O mesmo

comportamento foi observado nos teores de C, N, P e K nas raízes e parte aérea. Nas plantas de milho, a inoculação reduziu o conteúdo de La, Ce, Pr e Nd nas raízes e na parte aérea. Em sorgo, a inoculação não alterou o acúmulo de ETRs (GUO et al., 2013a). No mesmo solo do estudo anterior, Guo et al. (2013b) observaram colonização micorrízica de 67% em soja inoculada com *G. versiforme*.

É evidente que muito poucos e conhece sobre a interação de ETRs e micorriza. Estudos que avaliaram a influência de ETRs, na simbiose micorrízica, são raros no mundo e inexistentes no Brasil. Em culturas de interesse econômico para o Brasil pouco se sabe sobre a interação ETRs – micorriza, especialmente sobre os efeitos isolados de cada elemento. Os resultados disponíveis, tanto dos efeitos em plantas quanto na micorriza, são restritos às regiões específicas, o que impossibilita generalizações para a realidade brasileira. A grande importância da agricultura brasileira, na produção de alimentos no cenário mundial, aliada ao grande aporte de ETRs, nos solos agrícolas via fertilização fosfatada e a falta de conhecimento dos seus efeitos na produção vegetal, mostra a grande necessidade de estudos no Brasil que avaliem possíveis efeitos nas culturas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estudo 1: Aplicação individual de Ce, La, Nd e Y no crescimento e colonização micorrízica de milho em casa de vegetação

O presente estudo testou a aplicação individual de doses crescentes de Ce, La, Nd e Y, em duas formas de aplicação, no solo e no tratamento de sementes, na ausência e presença de propágulos de FMAs. Assim, para cada ETR, os seguintes ensaios foram realizados:

- a) Aplicação individual de doses crescentes no solo e condução em casa de vegetação por 60 dias.
- b) Aplicação individual de doses crescentes no tratamento de sementes, dividida em duas etapas:
 - Teste de germinação, conduzido no Laboratório de Sementes por 7 dias.
 - Avaliação do crescimento e condução em casa de vegetação por 60 dias.

3.1.1 Caracterização e preparo do solo

O solo utilizado em todos os ensaios de casa de vegetação foi classificado como LATOSSOLO VERMELHO distroférico típico coletado no horizonte B de um barranco em área nativa, para assegurar a ausência de adição de ETRs via fertilização fosfatada. Antes da correção e adubação, o solo apresentava as seguintes características químicas e granulométricas: pH (água) = 5,8; $H^+ + Al^{3+} = 1,49 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $Ca^{2+} = 0,10 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $Mg^{2+} = 0,10 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$

³; K = 16,00 mg dm⁻³; P = 0,28 mg dm⁻³; MO = 6,5 g kg⁻¹; areia = 180 g kg⁻¹; silte = 140 g kg⁻¹; argila = 680 g kg⁻¹.

Para eliminação de propágulos de FMAs, o solo foi autoclavado a 120°C por 1 hora, em dois dias consecutivos. Objetivando a estabilização química do Mn, o solo permaneceu por repouso, durante 30 dias, após as duas autoclavagens. Em seguida, foi realizada a correção do solo com a incorporação de CaCO₃ e MgCO₃ (3:1) no solo para elevação da saturação por bases a 50% (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999). Após a calagem, o solo permaneceu umedecido e em repouso por 30 dias para possibilitar a reação do calcário.

A fertilização do solo foi realizada, conforme recomendação para a cultura do milho e adubação em vasos (MALAVOLTA, 1980; RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999), sendo fornecidos 300 mg dm⁻³ de N, 250 mg dm⁻³ de P, 300 mg dm⁻³ de K, 50 mg dm⁻³ de S e 7,5 mg dm⁻³ de Zn. As adubações foram parceladas em 4 aplicações, igualmente distribuídas ao longo da condução do estudo, com exceção do Zn, que foi totalmente fornecido no plantio.

Depois do completo preparo, 1 kg de solo foi distribuído em cada vaso (unidade experimental) para posterior recebimento dos tratamentos e semeadura.

3.1.2 Aplicação de ETRs no solo

Os ensaios em que os ETRs foram adicionados ao solo foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 6 x 2. Para cada ETR, o fatorial foi composto por 6 doses e 2 condições de inoculação, ausência (- Mic) ou presença de propágulos de FMAs (+Mic).

Para a aplicação no solo, as doses de cada ETR foram estabelecidas por meio de testes anteriores realizados em casa de vegetação. Nesse caso, foram

aplicadas as doses para Ce de 0, 25, 50, 75, 100 e 125 mg dm⁻¹; para La de 0, 20, 40, 60, 80 e 100mg dm⁻¹; para Nd de 0, 15, 30, 45, 60 e 75mg dm⁻¹ e para Y de 0, 10, 20, 30, 40 e 50 mg dm⁻¹.

Os ETRs foram fornecidos na forma solúvel como nitratos hexahidratados [Ce(NO₃)₃.6H₂O, La(NO₃)₃.6H₂O, Nd(NO₃)₃.6H₂O, Y(NO₃)₃.6H₂O] da Sigma Aldrich, com 99% de pureza. Em razão da presença de N na fonte dos ETRs, foi realizado o balanceamento das doses de N por solução nutritiva, contendo NH₄NO₃, com o objetivo de igualar a quantidade de N recebido em todos os tratamentos.

A inoculação com FMAs foi realizada com solo inóculo composto pelas espécies *Gigaspora gigantea*, *Scutellospora heterogama* e *Acaulospora scrobiculata* com predominância de *S. heterogama*, depositado logo abaixo das sementes de milho, para fornecer 150 esporos vaso⁻¹. O solo inóculo foi obtido de vasos de cultivo com *Brachiaria brizantha* da Coleção de Fungos Micorrízicos Arbusculares da Universidade Federal de Lavras.

Após o preparo e distribuição do solo nos vasos, conforme a definição dos tratamentos, as soluções contendo ETRs foram pipetadas em cada vaso. Posteriormente, para homogeneização da concentração no solo, foi feita a homogeneização manual em sacos plásticos e, então, o solo foi depositado novamente no vaso para semeadura.

Foram semeadas 4 sementes vaso⁻¹ do híbrido Dow Agrosiences 2B810, restando apenas 1 planta vaso⁻¹ após o desbaste. A irrigação foi realizada diariamente, durante a condução do estudo, mantendo a umidade a 60% da capacidade de campo do solo.

3.1.3 Aplicação de ETRs no tratamento de sementes de milho

A aplicação de ETRs no tratamento de sementes foi realizada em duas etapas. A primeira consistiu no teste de germinação conduzido no Laboratório de Sementes por sete dias e a segunda etapa consistiu na condução de experimento em casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras por 60 dias, conforme mostra os itens 3.1.3.1 e 3.1.3.2.

3.1.3.1 Teste de germinação e crescimento de plântulas em laboratório

O teste de germinação e crescimento de plântulas foi conduzido no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Lavras, utilizando o híbrido Dow 2B810. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos (doses) e 4 repetições para cada ETR avaliado.

Para o tratamento de sementes, as doses de cada ETR foram baseadas no estudo realizado por Espindola, Menezes e Barbieri(2013). Nesse caso, as mesmas doses foram utilizadas para todos os ETRs, contudo, em aplicação individual. As doses de cada ETR para o tratamento de sementes foram: 0, 6, 12, 18, 24 e 30 mg L⁻¹. As sementes foram embebidas em solução com ETRs, conforme o tratamento, em volume 1,5 vezes maior que o peso das sementes, por uma hora e, posteriormente, secas com papel toalha.

A avaliação da germinação foi realizada, conforme o teste padrão de germinação, com quatro repetições, compostas por 50 sementes, para cada dose (BRASIL, 2009). As sementes foram semeadas em três folhas de papel germitest umedecidos com água destilada. Utilizou-se a quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso das folhas de papel germitest seco. As sementes utilizadas foram embebidas em solução com ETRs, conforme o tratamento, em volume 1,5

vezes maior que o peso das sementes, por uma hora e, posteriormente, secas com papel toalha.

Após as sementes distribuídas uniformemente no papel, os conjuntos foram enrolados e colocados em germinador, com temperatura constante de 25 °C. Depois de 7 dias, foi realizada a contagem de sementes germinadas, determinando-se a porcentagem de plântulas normais. Foram consideradas como plântulas normais apenas aquelas com todas as partes essenciais bem desenvolvidas e saudáveis, conforme preconizado por (BRASIL, 2009).

Para a avaliação do crescimento de plântulas, foram montadas 4 repetições com 10 sementes, para cada tratamento, da mesma maneira descrita para o teste de germinação. Aos 7 dias após a implantação do teste, foram avaliados o comprimento de parte aérea e raízes das plântulas normais. A obtenção da matéria seca de plântulas foi realizada, após avaliação de crescimento, em estufa com circulação forçada de ar a 65°C, até obtenção de peso constante.

3.1.3.2 Estudo em casa de vegetação

Os ensaios em que os ETRs foram adicionados no tratamento de sementes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 2. Os tratamentos constituíram da combinação de 6 doses do ETR e 2 condições de inoculação, ausência (- Mic) ou presença de propágulos de FMAs (+Mic).

As doses utilizadas em casa de vegetação no tratamento de sementes foram as mesmas utilizadas para cada ETR nos testes de germinação e crescimento de plântulas (item 3.2.3.1), bem como o tratamento de sementes com as soluções de ETR. As fontes de ETRs e inóculo de FMAs foram os mesmos utilizados no estudo com aplicação no solo (item 3.1.2). Após o

tratamento das sementes com as soluções de ETR, estas foram semeadas em vasos, de forma semelhante ao item 3.1.2, em vasos contendo 1 kg de solo devidamente preparado e sem adição de ETRs. Durante a condução do estudo, a irrigação foi realizada diariamente, mantendo a umidade a 60% da capacidade de campo do solo.

3.1.4 Amostragem e avaliações

Os estudos conduzidos em casa de vegetação, com aplicações de ETRs no solo ou no tratamento de sementes, foram conduzidos por 60 dias. Após esse período realizou-se a medição do conteúdo de clorofila na última folha completamente expandida, utilizando o aparelho SPAD da Minolta.

Após a leitura com o SPAD, as plantas foram cortadas e colhidas para avaliações de matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de raízes (MSR), colonização micorrízica, proteína do solo relacionada à glomalina (PSRG), atividade da fosfatase ácida e teor de ETRs na parte aérea e nas raízes de milho.

Então, após os 60 dias, as plantas foram cortadas e separadas em raízes e parte aérea (folha e caule), lavadas e, posteriormente, enxaguadas com água destilada. Em seguida, foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65° C, até atingir peso constante. A massa de matéria seca das amostras (MSPA e MSR) foi determinada em balança analítica e, em seguida, moída em moinho tipo Wiley. O material moído foi digerido, conforme o método 3051 da USEPA, no qual foram adicionados 5 mL de HNO₃ concentrado (destilado) em 0,5 g de material vegetal, e, após pernoitar, estes foram levados em forno micro-ondas, em tubos de Teflon®, por 10 minutos. Após a digestão, houve resfriamento do

extrato por 15 minutos e, então, completou-se o volume para 10 mL, com água destilada. A partir dos extratos, foram determinados os teores de Ce, La, Nd e Y, conforme o tratamento aplicado, em espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). O controle e a garantia da qualidade dos resultados de teores de ETRs foram assegurados pelo uso de uma amostra em branco e do material de referência certificado AquaticPlant (BCR 670), em cada bateria de análise.

Realizou-se, ainda, a coleta de amostras de raízes frescas que foram submetidas à clarificação e coloração com Tripán Blue (KOSKE; GEMMA, 1989) e quantificou-se a taxa de colonização micorrízica em placa quadriculada com microscópio estereoscópio (40 x) (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980). O solo contido nos vasos foi coletado e utilizado para quantificar a atividade da fosfatase ácida (DICK; BREAKWELL; TURCO, 1996) e conteúdo de PSRG (BRADFORD, 1976; WRIGHT; UPADHYAYA, 1996).

3.1.5 Análise estatística dos dados

Os resultados obtidos dos estudos em casa de vegetação foram submetidos à análise de variância, regressão linear, para avaliar o efeito das doses, e teste de Tukey, para avaliar o efeito da micorrização. Os resultados obtidos dos testes no laboratório de sementes, tais como porcentagem de plântulas normais, foram submetidos à análise de variância e regressão linear. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa computacional R.

3.2 Estudo 2: Aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y no solo, na aplicação foliar ou no tratamento de sementes de milho em campo

O presente estudo foi conduzido no município de Jataí – GO, à latitude de 17°56'1.54" S e longitude de 52°7'33.15" O, 874 m de altitude, em área pertencente à Fazenda Grupo Irmãos Gazarini. Conforme classificação de Köppen, o clima da região é classificado como Cw, mesotérmico, com estações seca e chuvosa bem definidas. Durante a condução do estudo, 24 fev. a 08 ago. de 2014, a região apresentou precipitação de 567 mm e temperatura média de 21,50°C, conforme dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

O solo da área é classificado como LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico, cultivado há vários anos com soja na safra (outubro-janeiro) e milho na safrinha (fevereiro-julho). As características químicas e granulométricas do solo, antes da implantação do estudo, foram: pH (água) = 4,6; $H^+ + Al^{3+} = 3,12 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $Ca^{2+} = 1,30 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $Mg^{2+} = 0,21 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $K = 30 \text{ mg dm}^{-3}$; $P = 5,40 \text{ mg dm}^{-3}$; $MO = 1,40 \text{ g kg}^{-1}$; areia = 79 g kg^{-1} ; silte = 1 g kg^{-1} ; argila = 20 g kg^{-1} .

3.2.1 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento com blocos casualizados, com arranjo fatorial 3 x 3 com 1 tratamento adicional (3 x 3 +1). Os fatores avaliados foram 3 formas de aplicação (tratamento de sementes, aplicação no solo e aplicação foliar) e 3 combinações de ETRs com Zn (ETR, ETR + Zn, Zn), além do controle como tratamento adicional, que não recebeu o mix de ETRs ou Zn.

3.2.2 Aplicação do mix de ETRs e Zn e formas de aplicação

O mix de ETRs foi composto por Ce, La, Nd e Y, que compreendem os ETRs mais abundantes em solos e fertilizantes (DINALI, 2014; TYLER, 2004; TYLER; OLSSON, 2005). As concentrações de ETRs foram estabelecidas, baseando-se naquelas presentes no Chang Le, um fertilizante de ETRs na forma de nitratos, amplamente utilizado na China (WEN et al., 2001). Assim, independentemente da forma de aplicação, todos os mix de ETRs apresentaram na composição 49,72% de Ce, 28,78% de La, 16,32% de Nd e 5,19% de Y. Os ETRs foram fornecidos em forma de nitratos hexahidratados, assim como os estudos em casa de vegetação (item 3.1).

No tratamento de sementes, o mix de ETRs foi composto por 20 mg L⁻¹ de Ce, 12 mg L⁻¹ de La, 7 mg L⁻¹ de Nd e 2 mg L⁻¹ de Y. A dose de Ce foi escolhida, conforme o trabalho de Espindola, Menezes e Barbieri (2013), no qual obteve melhor crescimento e aumento de produção. A proporção dos demais ETRs foi estabelecida conforme as proporções encontradas no Chang Le. O tratamento de sementes com a solução de mix de ETRs foi realizada da mesma forma que os estudos em casa de vegetação (item 3.1.3) e, então, semeadas.

No tratamento de solo, o mix de ETRs foi composto por 40 kg ha⁻¹ de Ce, 23 kg ha⁻¹ de La, 13 kg ha⁻¹ de Nd e 4 kg ha⁻¹ de Y, correspondentes às concentrações de 20, 12, 7 e 2 mg dm⁻³, respectivamente. A dose de Ce foi estabelecida em ensaios anteriores, realizados em casa de vegetação e os demais ETRs definidos conforme as proporções encontradas no Chang Le. Os ETRs foram aplicados, na forma de solução, na linha de plantio, antecedendo à semeadura do milho.

No tratamento via foliar, o mix de ETRs foi composto por 298 g ha⁻¹ de Ce, 173 g ha⁻¹ de La, 98 g ha⁻¹ de Nd e 31 g ha⁻¹ de Y. Tais concentrações foram

baseadas na recomendação de 600 g ha⁻¹ de Chang Le para vegetais, conforme utilizado por Wen et al. (2001). A aplicação foliar foi realizada no estágio fenológico V4, com pulverizador costal e concentração de calda de 0,3%.

O Zn foi aplicado na forma de sulfato de zinco heptahidratado, nas seguintes doses: 50 g kg⁻¹ de semente, no tratamento de sementes; 2 kg ha⁻¹ de Zn, no sulco de plantio (via solo); e 2 kg ha⁻¹ de Zn, na aplicação foliar realizada no estágio V4, conforme recomendações de adubação com micronutrientes para a cultura do milho (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999; SOUSA; LOBATO, 2004).

3.2.3 Implantação, condução do estudo e avaliações

A semeadura do milho, cultivar Pioneer 3646, foi realizada em 24 de fevereiro, com população de plantas de 60.000 sementes ha⁻¹, com espaçamento entre linhas de 0,80 m. Cada parcela (unidade experimental) foi composta por 9 linhas com 7 m de comprimento, totalizando 50,4 m² de área. Foram consideradas, como área útil da parcela, as duas linhas centrais. A fertilização do milho foi feita com 210 kg ha⁻¹ do formulado 00-25-25, no plantio, e 150 kg ha⁻¹ de ureia com inibidor de urease (Super N), na adubação de cobertura, no estágio fenológico V4.

No pendoamento do milho (estádio VT), utilizando-se a primeira folha contrária e abaixo da espiga, realizou-se avaliação do índice de clorofila, utilizando-se o aparelho SPAD, da taxa de fotossíntese líquida, condutância estomática e a taxa transpiratória, com auxílio do analisador de gases a infravermelho LI-COR modelo LI-6400 XT, a um fluxo de fótons de 1.500 μmol m⁻² s⁻¹.

Ainda no pendoamento foram coletadas amostras de solo, raízes e folhas. O solo foi coletado na profundidade de 0-20 cm na linha de plantio,

próximo às raízes das plantas. Para raízes, foram arrancadas plantas inteiras para coleta de todo o sistema radicular. Das folhas coletou-se a primeira folha logo abaixo e oposta à espiga. As amostras de solo foram acondicionadas em caixas térmicas com gelo e trazidas para o Laboratório de Microbiologia e Bioquímica do Solo, da Universidade Federal de Lavras, para análise da atividade de fosfatase ácida (DICK; BREAKWELL; TURCO, 1996), proteína do solo relacionada à glomalina total (PSRG-Total) e facilmente extraível (PSRG-FE) (BRADFORD, 1976; WRIGHT; UPADHYAYA, 1996) e densidade de esporos de FMAs (GERDEMANN; NICOLSON, 1963; JENKINS, 1964). As raízes finas coletadas foram utilizadas para quantificar a taxa de colonização micorrízica (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980; KOSKE; GEMMA, 1989).

Amostras de folhas, raízes e grãos foram lavadas e, posteriormente, enxaguadas com água destilada. Em seguida, foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65° C, até atingir peso constante e, então, moídas em moinho tipo Wiley. Os procedimentos de preparação do material vegetal e quantificação de ETRs foram realizados da mesma forma que os estudos conduzidos em casa de vegetação. O fator de translocação foi calculado, conforme equação de Yoon et al. (2006):

$$FT = \frac{[ETR]_{PA}}{[ETR]_R},$$

em que $[ETR]_{PA}$ e $[ETR]_R$ é a concentração do elemento terra rara na parte aérea e nas raízes, respectivamente.

Ao final do ciclo, a área útil da parcela (duas linhas centrais) foi colhida para a obtenção da produção de grãos, cujo resultado foi corrigido para 13% de umidade. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey (5%), utilizando o programa computacional R.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo 1: Aplicação individual de Ce, La, Nd e Y no crescimento e colonização micorrízica de milho em casa de vegetação

A aplicação individual de Ce, La, Nd e Y no solo ou no tratamento de sementes juntamente com a inoculação de propágulos de FMAs promoveram efeitos na colonização micorrízica e no crescimento de milho, conforme é discutido nos itens 4.1.1 a 4.1.6.

4.1.1 Efeitos da aplicação de ETRs na colonização micorrízica de milho

O resumo da análise de variância da colonização micorrízica de milho, submetido à aplicação de ETRs, no solo e no tratamento de sementes, é mostrado na Tabela 1. Na aplicação no solo, os quatro ETRs testados promoveram efeitos significativos na colonização micorrízica de milho. No tratamento de sementes, apenas a aplicação de Ce foi significativa para o teste F, contudo a regressão linear das doses dos quatro elementos apresentou significância (Tabela 2).

Tabela 1 Resumo da análise de variância (significância do teste F) da colonização micorrízica de milho submetido à aplicação de Ce, La, Nd e Y no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação

ETR	Significância do teste F	CV (%)
Aplicação no solo		
Ce	0,0066**	4,05
La	0,05*	4,81
Nd	0,001**	4,46
Y	0,005**	6,82
Aplicação no tratamento de sementes		
Ce	0,006**	6,37
La	0,83 ^{ns}	8,81
Nd	0,64 ^{ns}	9,79
Y	0,41 ^{ns}	9,28

CV: coeficiente de variação. ***Altamente significativo; **Significativo a 1%; *Significativo a 5%; ns: não significativo. Os dados de colonização micorrízica foram transformados em raiz quadrada.

A colonização micorrízica de milho, submetido à aplicação de Ce, La, Nd e Y, no solo e no tratamento de sementes, é apresentada nas Figuras 1 e 2, respectivamente. As equações da regressão linear, coeficientes de determinação (r^2) e significância dos coeficientes de regressão (β_1 – equações de 1º grau e β_2 – equações de 2º grau) da colonização micorrízica são mostrados na Tabela 2.

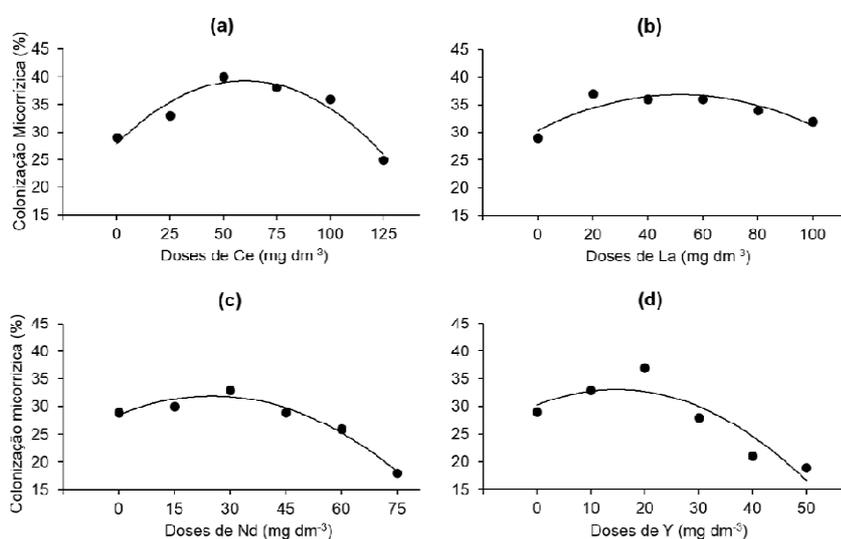


Figura 1 Colonização micorrízica de milho submetido à aplicação de Ce (a), La (b), Nd (c) e Y (d) no solo, em casa de vegetação

As plantas dos tratamentos com ausência de inoculação de FMAs (-Mic) não apresentaram colonização micorrízica e, por essa razão, o tratamento -Mic da colonização micorrízica não foi incluído na análise de variância. Quando aplicados no solo, o comportamento de Ce, La, Nd e Y foi bastante semelhante, onde se observou-se, em todos esses elementos, um comportamento quadrático, com estímulo nas menores doses e efeito tóxico em doses mais elevadas (Figura 1). A aplicação de Ce obteve maior taxa de colonização micorrízica na dose 76,5 mg dm⁻³, conforme a equação de regressão (Tabela 2), onde atingiu 39% de raízes colonizadas. Esse estímulo observado representou aumento de 35% na colonização micorrízica em relação ao controle (Figura 1a).

Tabela 2 Equações da regressão linear de colonização micorrízica (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Ce, La, Nd e Y no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação

ETR	Equações de regressão linear	R ²	F-β
Aplicação no solo			
Ce	$Y = -0,0017x^2 + 0,2601x + 28,8928$	86,97	0,002**
La	$Y = -0,0024x^2 + 0,2496x + 30,3571$	76,66	0,008**
Nd	$Y = -0,0055x^2 + 0,2757x + 28,7857$	98,01	0,001**
Y	$Y = -0,0132x^2 + 0,3892x + 30,2142$	84,43	0,0029**
Aplicação no tratamento de sementes			
Ce	$Y = -0,0372 x^2 + 1,3540 x + 23,6297$	90,31	0,001**
La	$Y = -0,01004 x^2 + 0,202 x + 24,5809$	91,68	0,03*
Nd	$Y = -0,0175 x^2 + 0,4360 x + 24,7374$	84,74	0,05*
Y	$Y = -0,0013 x^2 - 0,1692 x + 25,3460$	83,35	0,05*

*** Altamente significativo; ** Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo.

Para La, a maior colonização (37%) ocorreu com a aplicação de 52 mg dm^{-3} . Além do estímulo observado, verificou-se que, mesmo na maior dose (100 mg dm^{-3}), a colonização micorrízica ainda foi 3% superior ao controle (Figura 1b). Na aplicação de Nd, a máxima colonização micorrízica (32%) foi obtida com a dose $26,06 \text{ mg dm}^{-3}$ de Nd. Para Y, a colonização atingiu a máxima taxa (33%) com $14,74 \text{ mg dm}^{-3}$ de Y. Efeitos mais tóxicos foram observados para Nd e Y nas suas maiores doses (75 e 50 mg dm^{-3}), onde houve reduções de 36 e 17%, respectivamente, na colonização micorrízica em relação aos seus respectivos controles (0 mg dm^{-3}).

Quando aplicados no tratamento de sementes, os ETRs Ce, La e Nd apresentaram estímulo à micorrização nas doses mais baixas e redução em doses superiores à dose ótima (dose de resposta máxima), como mostram as Figuras 1a, b, c. Com Ce, até mesmo a maior dose, apresentou colonização micorrízica superior ao controle (Figura 2a). Conforme as equações de regressão, apresentadas na Tabela 2, as maiores taxas de colonização micorrízica foram obtidas com a aplicação de $18,18 \text{ mg L}^{-1}$ de Ce, $10,06 \text{ mg L}^{-1}$ de La e $12,43 \text{ mg L}^{-1}$ de Nd atingindo 34, 25 e 27% de raízes colonizadas, respectivamente. Contudo, o tratamento de sementes com Y foi tóxico à colonização micorrízica mesmo na menor dose e apresentou, na maior dose, colonização micorrízica 25% menor que o controle (Figura 2d).

Como é possível observar, as doses aplicadas no tratamento de sementes foram menores que àquelas adicionadas ao solo. Em Ce, por exemplo, a colonização micorrízica na aplicação em solo reduziu a partir de $76,5 \text{ mg dm}^{-3}$. No tratamento de sementes essa redução ocorreu a partir de $18,18 \text{ mg L}^{-1}$, cuja concentração de Ce é inferior a observada na aplicação no solo. Esse padrão de resposta foi observado em todos os ETRs avaliados. Além disso, as aplicações no solo promoveram maiores taxas de colonização micorrízica que as aplicações no tratamento de sementes. Isso sugere que os FMAs podem ser mais tolerantes

à aplicação desses elementos que as plantas (GONZALEZ-CHAVEZ et al., 2002a), pois, quando aplicados no solo, estes podem exercer efeitos mais diretos no micélio extrarradicular que quando aplicados no tratamento de sementes. Em solo enriquecido com até 200 mg kg⁻¹ de As, Gonzalez-Chavez et al. (2002b) observaram que houve inibição do crescimento da gramínea *Holcus lanatus*, mas não afetou a germinação dos esporos de FMAs. Em solo enriquecido com ETRs ($\Sigma_{\text{ETRs}} = 985,34 \text{ mg kg}^{-1}$) Guo et al. (2013a, 2013b) mostraram que a colonização por *Glomus versiforme* atingiu 67% em soja, 77% em milho e 80% em sorgo. Esses resultados sugerem que o excesso desses ETRs, no metabolismo vegetal, pode promover algum tipo de estresse mais diretamente na planta que no fungo, o que é verificado pela redução do crescimento em doses mais elevadas. Como resposta ao estresse, a planta inibe a micorrização, visto que os FMAs podem atuar como dreno de fotoassimilados.

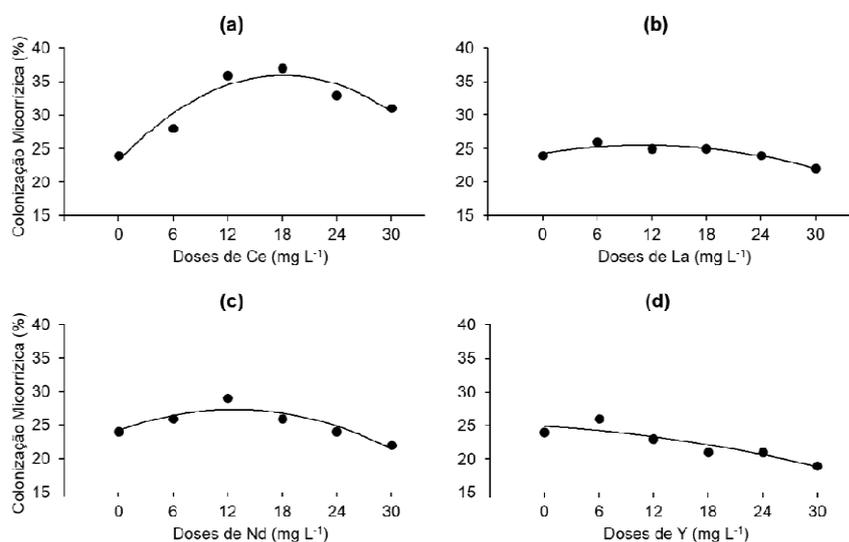


Figura 2 Colonização micorrízica de milho submetido à aplicação de Ce (a), La (b), Nd (c) e Y (d) no tratamento de sementes, em casa de vegetação

Os efeitos da aplicação de ETRs na colonização micorrízica ainda são pouco estudados. Na literatura é encontrado apenas um relato do efeito isolado de ETR, no qual se avaliou a aplicação de La sobre a colonização micorrízica. Para Ce, Nd e Y o presente trabalho representa o primeiro relato dos efeitos da aplicação destes na colonização micorrízica. Os resultados encontrados por Chen e Zhao (2007) com a aplicação de La em *Astragalus sinicus* foram diferentes dos apresentados neste estudo. Os autores observaram que a aplicação de 20 mg dm⁻³ de La no solo reduziu 32% da colonização por *Gigaspora margarita*, afetando mais expressivamente a colonização das plantas inoculadas com *Rhizophagus intraradices* (-57%) e *Acaulospora laevis* (-80%). No presente estudo, a dose de La no solo de resposta máxima (52 mg dm⁻³) foi muito superior à dose utilizada por esses autores (20 mg dm⁻³). Por se tratar de espécies vegetais diferentes, torna-se complicada a comparação entre estas, uma vez que existem diferenças em suas características, tais como a dependência micorrízica. Em milho, ou

outras espécies de interesse econômico para o Brasil, ainda não existem estudos que avaliem o efeito da aplicação isolada de La na colonização micorrízica, sendo o presente estudo o primeiro relato.

4.1.2 Efeitos da aplicação de Cério (Ce) ao solo e nas sementes de milho

O resumo da análise de variância da produção de matéria seca parte aérea (MSPA), matéria seca de raízes (MSR) e índice de clorofila de milho é mostrado na Tabela 3. Na aplicação no solo, os fatores avaliados (doses x micorriza) apresentaram interação significativa somente para MSPA. Na MSR e no índice de clorofila, houve apenas efeitos isolados das doses e da micorriza e, portanto, seus resultados encontram-se separados na Figura 3 e Tabela 5, respectivamente. No tratamento de sementes, houve interação entre os fatores avaliados (doses x micorriza) para todas as variáveis analisadas.

Tabela 3 Resumo da análise de variância de plântulas normais, produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Ce no solo e no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variáveis	Doses	Mic	Doses x Mic	CV (%)
Aplicação no solo				
Matéria seca de parte aérea	0,000***	0,000***	0,03*	10,72
Matéria seca de raízes	0,001***	0,02*	0,54 ^{ns}	14,39
Índice de clorofila	0,000***	0,000***	0,07 ^{ns}	7,78
Aplicação no tratamento de sementes				
Matéria seca de parte aérea	0,000***	0,000***	0,002**	11,73
Matéria seca de raízes	0,000***	0,000***	0,000***	4,62
Índice de clorofila	0,000***	0,000***	0,000***	7,56

Mic: micorriza. CV: coeficiente de variação. ***Altamente significativo; **Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ns: não significativo.

Os efeitos da aplicação das doses de Ce no solo sobre a MSPA, MSR e índice de clorofila são apresentados na Figura 3 e os resultados da regressão linear são mostrados na Tabela 4.

A aplicação de Ce no solo interferiu na produção de MSPA das plantas de milho. No tratamento inoculado (+Mic), as plantas apresentaram crescimento superior às daquelas do tratamento não inoculado (-Mic) em todas as doses de Ce (Figura 3a). A maior produção de MSPA foi obtida com 57,39 mg dm⁻³ de Ce em +Mic e 55,60 mg dm⁻³ de Ce em -Mic, com aumentos de 38 e 29% em relação ao controle, respectivamente (Tabela 4).

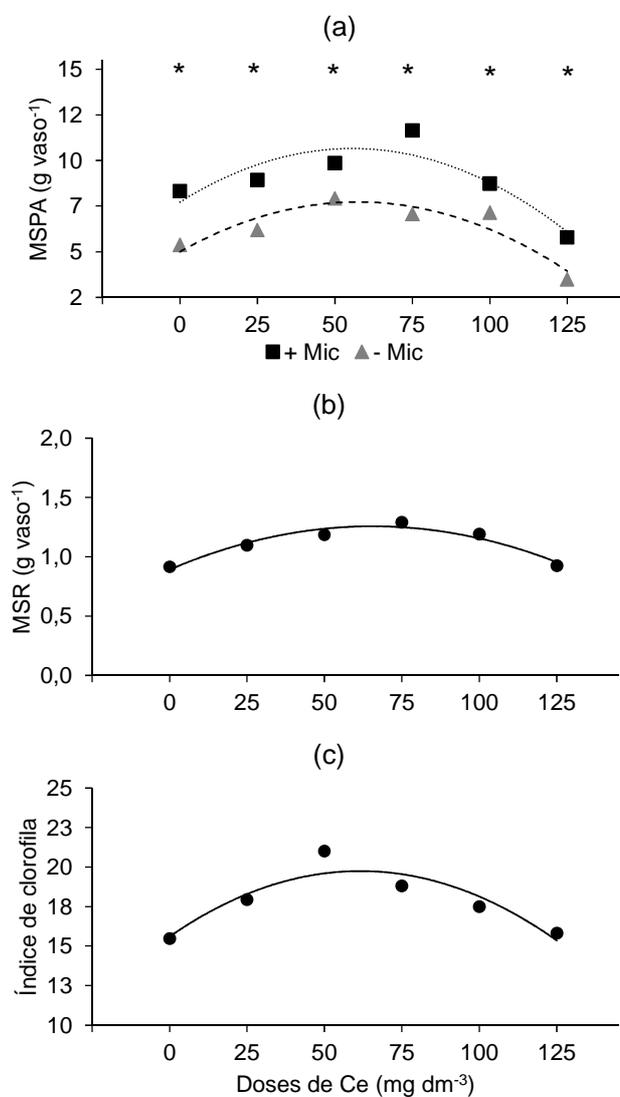


Figura 3 Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de Ce no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: *Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Tabela 4 Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso⁻¹), índice de clorofila e plântulas normais (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Ce no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação

Variáveis		Equações de regressão linear	R ²	F-β ₂
Aplicação no solo				
Matéria seca de parte aérea	-Mic	Y = -0,0008 x ² + 0,0949 x + 4,5011	85,31	0,000***
	+ Mic	Y = -0,0009 x ² + 0,1055 x + 7,2232	80,84	0,000***
Matéria seca de raízes	Média	Y = -0,0001 x ² + 0,0112 x + 0,8910	93,51	0,000***
Índice de Clorofila	Média	Y = -0,0011 x ² + 0,1343 x + 15,6086	84,14	0,000***
Aplicação no tratamento de sementes				
Plântulas Normais	-	Y = -0,0078 x ² + 0,3032x + 95,849	83,40	0,01**
Matéria seca de parte aérea	-Mic	Y = -0,0081 x ² + 0,1302 x +4,8638	85,05	0,004**
	+ Mic	Y = -0,0035 x ² + 0,0804 x +7,6876	86,08	0,007**
Matéria seca de raízes	-Mic	Y = -0,0014 x ² + 0,0641 x +0,8446	90,18	0,000***
	+ Mic	Y = -0,0009 x ² + 0,0323 x +1,4460	93,68	0,000***
Índice de Clorofila	-Mic	Y = -0,0182 x ² + 0,5151 x +14,9377	77,79	0,002**
	+ Mic	Y = -0,0192 x ² + 0,7791 x +15,9801	74,61	0,000***

*** Altamente significativo; ** Significativo a 1%; * Significativo a 5%.

Na produção de MSR também houve aumento com a aplicação de Ce no solo (Figura 3b), contudo a dose ótima foi de $65,17 \text{ mg dm}^{-3}$, com aumento de 29% quanto ao controle. A equação de regressão apresentou $r^2 = 93,51$, o que demonstra que a aplicação de Ce no solo correspondeu a 93,51% do aumento verificado na MSR (Tabela 4). Quanto ao fator micorriza, verificou-se que as plantas do tratamento +Mic apresentaram crescimento radicular 12% superior ao -Mic (Tabela 5).

Tabela 5 Matéria seca de raízes e índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Ce e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variável	+ Mic	-Mic
Matéria seca de raízes (g vaso^{-1})	1,16 A	1,04 B
Índice de clorofila	19,49 A	16,02 B

+Mic: presença de propágulos de FMAs; -Mic: Ausência de propágulos de FMAs. Médias com mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%).

O índice de clorofila foi igualmente influenciado pelas doses de Ce (Figura 3c), com resposta máxima em $61,55 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ce, o que representou aumento de 21% em relação ao controle, onde não houve aplicação desse ETR (Tabela 4). O índice de clorofila apresentou correlação de 67,51% com o crescimento de parte aérea (MSPA) e de 73,18% com a produção de MSR, demonstrando que houve influência dessa variável no crescimento das plantas de milho.

Os efeitos da aplicação de doses de Ce no tratamento de sementes sobre a porcentagem de plântulas normais, MSPA, MSR e índice de clorofila são apresentados na Figura 4 e os resultados da regressão linear são mostrados na Tabela 4.

A aplicação de Ce, no tratamento de sementes, elevou a porcentagem de plântulas normais em milho. A resposta da porcentagem de plântulas normais,

em relação às doses de Ce, apresentou comportamento quadrático positivo (Figura 4a) com resposta máxima em $19,44 \text{ mg L}^{-1}$ de Ce, ponto no qual atingiu 99% (Tabela 4). O aumento da porcentagem de plântulas normais e o crescimento das plântulas de milho, também, foram mostrados por Espindola, Menezes e Barbieri (2013) com a aplicação de 20 mg L^{-1} de Ce no tratamento de sementes.

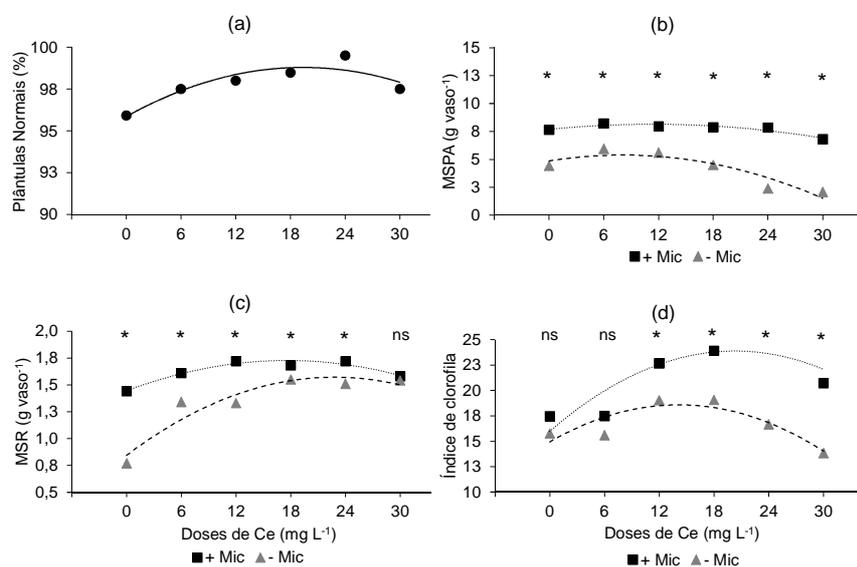


Figura 4 Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Ce no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: *Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Na MSPA, a aplicação de Ce no tratamento de sementes pouco influenciou as plantas do tratamento +Mic (Figura 4b), uma vez que a resposta máxima, obtida na dose $11,35 \text{ mg L}^{-1}$, foi apenas 6% superior ao controle

(Tabela 4). Nas plantas do tratamento –Mic, a produção máxima de MSPA ocorreu com 8,08 mg L⁻¹ de Ce, havendo expressiva redução nas doses acima desta. Em relação ao fator micorriza, verificou-se que a micorrização aumentou a produção de MSPA em todas as doses de Ce. O efeito da inoculação ficou mais evidente ao observar que a MSPA obtida na maior dose do tratamento +Mic (30 mg L⁻¹) foi 43% superior ao controle de –Mic (0 mg L⁻¹) e 22% maior que a máxima resposta de –Mic.

Na MSR, a aplicação de Ce proporcionou maior crescimento nas plantas do tratamento +Mic, exceto na dose 30 mg L⁻¹ de Ce, onde não houve diferença estatística entre +Mic e –Mic (Figura 4c). Em +Mic, a adição de Ce ao tratamento de sementes promoveu maior produção MSR com adição de 17,62 mg L⁻¹ de Ce. Contudo, a resposta às doses de Ce foi mais expressiva nas plantas do tratamento –Mic, pois a dose ótima (22,68 mg L⁻¹) proporcionou produção de MSR 86% maior que o controle. De acordo com o coeficiente de determinação da regressão (r²), as doses de Ce no tratamento de sementes foram responsáveis por 90,18 e 93,68% da variação da MSR nos tratamentos –Mic e +Mic, respectivamente (Tabela 4). As plantas com maior sistemas radicular, como verificado em ambas as formas de aplicação de Ce, podem favorecer o crescimento visto que dessa forma apresenta maior capacidade de absorção de nutrientes e água (KONG et al., 2014; ROGERS; BENFEY, 2015).

O índice de clorofila aumentou com a aplicação de Ce no tratamento de sementes e com a micorrização das plantas de milho (Figura 4d). Nas plantas do tratamento +Mic, o índice de clorofila obteve resposta máxima com aplicação de 20,30 mg L⁻¹, onde o índice foi 29% maior que o controle. A inoculação de FMAs, aliada às doses de Ce ≥ 12 mg L⁻¹, beneficiaram o índice de clorofila, onde se constatou que houve maior índice de clorofila nas plantas +Mic que nas plantas –Mic até a maior dose de Ce. Em –Mic, o maior índice de clorofila ocorreu com a aplicação de 14,16 mg L⁻¹ de Ce (Tabela 4).

Verificou-se que a aplicação de Ce, em ambas as formas de aplicação estudadas, pode aumentar o índice de clorofila nas folhas e estimular a colonização micorrízica de milho e, assim, promover o crescimento das plantas (parte aérea e raízes). Os resultados do presente estudo apontam que as doses ideais de Ce, para a promoção do crescimento das plantas de milho, foram de $57,39 \text{ mg dm}^{-3}$ na aplicação no solo e de $11,35 \text{ mg L}^{-1}$ no tratamento de sementes. A vantagem do tratamento de sementes em relação à aplicação no solo seria a rápida disponibilidade do Ce desde o crescimento inicial da planta e ausência de contato do elemento com a fase sólida do solo. A aplicação de Ce no solo implica seu contato direto com a fase sólida e a solução do solo, as quais podem interferir na sua solubilidade e disponibilidade à planta (HU et al., 2006; WANG; SHAN; ZHANG, 2001) e, por isso, demanda a aplicação de maiores doses. Os benefícios promovidos pelo Ce, no crescimento das plantas, foram potencializados pela inoculação com FMAs, nas duas formas de aplicação, uma vez que as plantas do tratamento +Mic, mesmo na maior dose, apresentaram maior crescimento que as plantas do tratamento –Mic.

A aplicação de $61,55 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ce no solo e $20,30 \text{ mg L}^{-1}$ no tratamento de sementes aumentou o índice de clorofila nas folhas de milho o que pode ter contribuído com o aumento verificado no crescimento das plantas, assim como comprovado em outros estudos (EMMANUEL et al., 2010b; SHYAM; AERY, 2012; ZHOU et al., 2011). Alguns estudos verificaram aumento relevante no conteúdo de clorofila em milho sob deficiência de Mg e Mn (GONG et al., 2011a, 2011b; ZHOU et al., 2011), o que beneficiou a taxa fotossintética mesmo sob inadequado status nutricional. No presente estudo, conduzido em condições nutricionais adequadas, a aplicação de Ce também foi capaz de aumentar o índice de clorofila nas folhas. O Ce^{3+} pode influenciar de inúmeras maneiras o conteúdo de clorofila nas folhas. Há relatos de que este pode catalisar a conversão de protoclórofila em clorofila e também estar

relacionado à atividade das enzimas fundamentais à síntese dessa molécula, o que contribui para o aumento dos pigmentos fotossintéticos, especialmente clorofila b. O Ce^{3+} pode ainda substituir o Mg^{2+} no centro da molécula de clorofila e formar Ce-clorofila, o que também contribui para o aumento no conteúdo de clorofila nas folhas (GONG et al., 2011a; HONG et al., 2002; ZHOU et al., 2011). Por outro lado, os resultados do presente estudo mostraram que a aplicação de Ce acima da dose ótima resultou em efeito tóxico para o índice de clorofila nas duas formas de aplicação. Shyam e Aery (2012) apontam que a redução no conteúdo de clorofila pode ocorrer em função de distúrbios na biossíntese de clorofila e pela formação de clorofilase, enzima responsável pela degradação desta molécula.

4.1.3 Efeitos da aplicação de Lantânio (La) ao solo e nas sementes de milho

O resumo da análise de variância da produção de MSPA, MSR e índice de clorofila de milho encontra-se na Tabela 6. Na aplicação em solo, os fatores avaliados (doses x micorriza) não mostraram interação significativa para MSPA, MSR e índice de clorofila, havendo apenas efeitos isolados e, por isso, os resultados de cada fator são apresentados separadamente na Figura 5 (doses) e na Tabela 8 (micorriza). No tratamento de sementes, houve interação significativa dos fatores avaliados em MSPA e MSR. O índice de clorofila apresentou efeito significativo apenas do fator micorriza.

Tabela 6 Resumo da análise de variância (significância do teste F) da produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de La no solo e no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variáveis	Doses	Mic	Doses x Mic	CV (%)
Aplicação no solo				
Matéria seca de parte aérea	0,000*	0,000*	0,15 ^{ns}	10,22
Matéria seca de raízes	0,02*	0,000***	0,66 ^{ns}	14,23
Índice de clorofila	0,02*	0,000***	0,35 ^{ns}	8,17
Aplicação no tratamento de sementes				
Matéria seca de parte aérea	0,000***	0,000***	0,000***	7,50
Matéria seca de raízes	0,000***	0,000***	0,000***	7,43
Índice de clorofila	0,09 ^{ns}	0,000***	0,06 ^{ns}	7,94

Mic: micorriza. CV: coeficiente de variação. ***Altamente significativo; **Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ns: não significativo.

Os efeitos da aplicação de La no solo sobre a MSPA, MSR e índice de clorofila são apresentados na Figura 5 e os resultados da regressão linear na Tabela 7.

A resposta máxima de produção de MSPA de milho ocorreu com a aplicação de 34,53 mg dm⁻³ de La no solo, com aumento de 14% em relação ao controle (Figura 5a e Tabela 7). Quanto ao fator micorriza, as plantas do tratamento +Mic obtiveram incremento de 41% na produção de MSPA em relação as do -Mic (Tabela 8). Resultados semelhantes foram observados por Zeng et al. (2006) em arroz. Os autores mostraram que a aplicação de 42,03 mg kg⁻¹ de La no solo promoveu o crescimento das plantas e a aplicação de 96,2 mg kg⁻¹ de La resultou em efeitos tóxicos, promovendo grave inibição no crescimento das plantas.

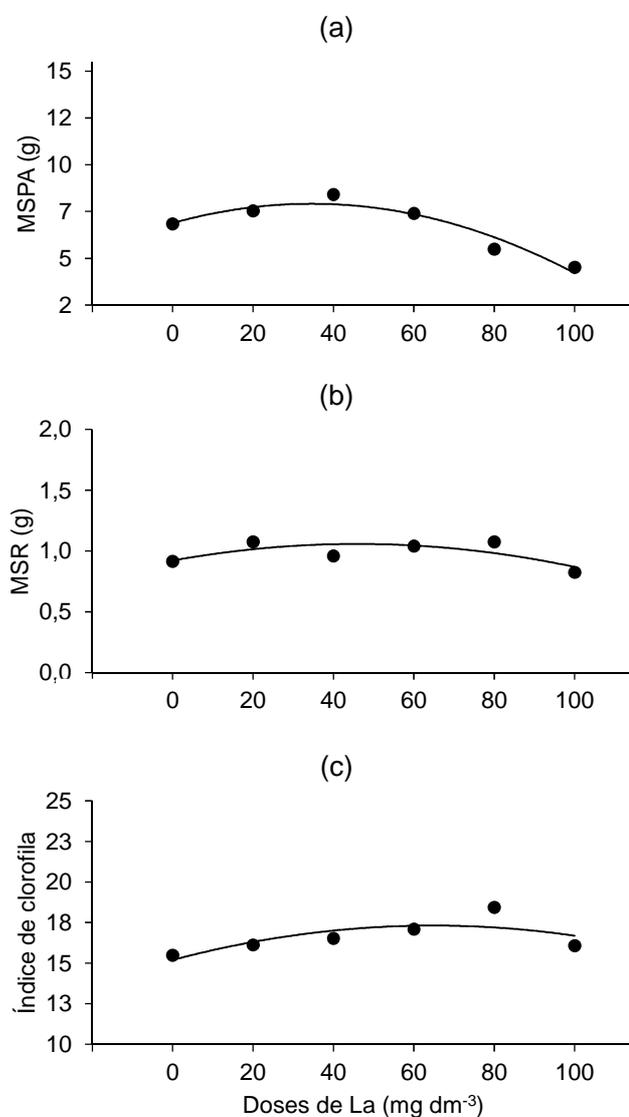


Figura 5 Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de La no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: *Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Tabela 7 Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso⁻¹), índice de clorofila e plântulas normais (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de La no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação

Variáveis		Equações de regressão linear	R ²	F-β ₂
Aplicação de La no solo				
Matéria seca de parte aérea	Média	Y = -0,0009 x ² + 0,0597 x + 6,3830	92,04	0,000***
Matéria seca de raízes	Média	Y = -0,0001 x ² + 0,0059 x + 0,9220	56,99	0,010*
Índice de Clorofila	Média	Y = -0,0005 x ² + 0,0655 x + 15,1977	57,24	0,030*
Aplicação de La no tratamento de sementes				
Plântulas Normais	Média	Y = -0,0126x ² + 0,2861x + 96,259	87,29	0,02*
Matéria seca de parte aérea	-Mic	Y = -0,0106 x ² + 0,2770 x + 4,9773	76,47	0,000***
	+Mic	Y = -0,0107 x ² + 0,1926 x + 8,3051	86,28	0,000***
Matéria seca de raízes	-Mic	Y = -0,0043 x ² + 0,1168 x + 0,9071	87,15	0,000***
	+Mic	Y = -0,0016 x ² + 0,0359 x + 1,5096	84,94	0,000***
Índice de Clorofila	Média	Y = -0,0050 x ² + 0,1526 x + 17,1143	33,63	0,06 ^{ns}

*** Altamente significativo; ** Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo

Tabela 8 Matéria seca de parte aérea, matéria seca de raízes e índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de La e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variável	+ Mic	- Mic
Matéria seca de parte aérea (g vaso ⁻¹)	7,24 A	5,15 B
Matéria seca de raízes (g vaso ⁻¹)	1,08 A	0,88 B
Índice de clorofila	19,41 A	13,83 B

+Mic: presença de propágulos de FMAs; -Mic: Ausência de propágulos de FMAs. Médias com mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%).

A MSR obteve maior produção com a aplicação de 45,62 mg dm⁻³ de La no solo, com aumento de 13% no crescimento radicular das plantas de milho em relação ao controle (Figura 5b e Tabela 7). A inoculação com FMAs (+Mic) proporcionou acréscimo de 23% no crescimento radicular em relação à -Mic (Tabela 8).

O maior índice de clorofila observado foi com a aplicação de 64,81 mg dm⁻³ de La no solo, em que cresceu 12% o conteúdo de clorofila na folha em relação ao controle (Tabela 7). Apesar de mostrar comportamento quadrático decrescente acima desta dose (Figura 5c), verifica-se que até mesmo a maior dose de La promoveu aumento de 11% no conteúdo de clorofila nas folhas de milho comparado ao controle. Quanto ao fator micorriza, as plantas do tratamento +Mic obtiveram índice de clorofila 40% maior que aquelas do tratamento -Mic (Tabela 8). O comportamento do La, em relação ao conteúdo de clorofila, é bastante semelhante ao relatado para Ce. Após a absorção, o La pode se acumular em diversas partes da planta, inclusive, na molécula de clorofila. Em *Dicranopteris lineares*, plantas hiperacumuladoras, foram encontradas até 299 µg de La na molécula de clorofila (WEI et al., 2005). Esse acúmulo na molécula de clorofila pode induzir a substituição do Mg²⁺ pelo La³⁺, formando moléculas de La-clorofila (HONG; WEI; ZHAO, 2002). Em

espinafre, o conteúdo de La-clorofila chegou a representar 72% do conteúdo total de clorofila das folhas (CHEN et al., 2001; HONG; WEI; ZHAO, 2002).

A aplicação de La, no tratamento de sementes, também, promoveu aumento no crescimento, assim como observado na aplicação de solo (Figura 6). A porcentagem de plântulas normais atingiu máxima resposta com a adição de $11,35 \text{ mg L}^{-1}$ de La nas sementes (Figura 6a e Tabela 7).

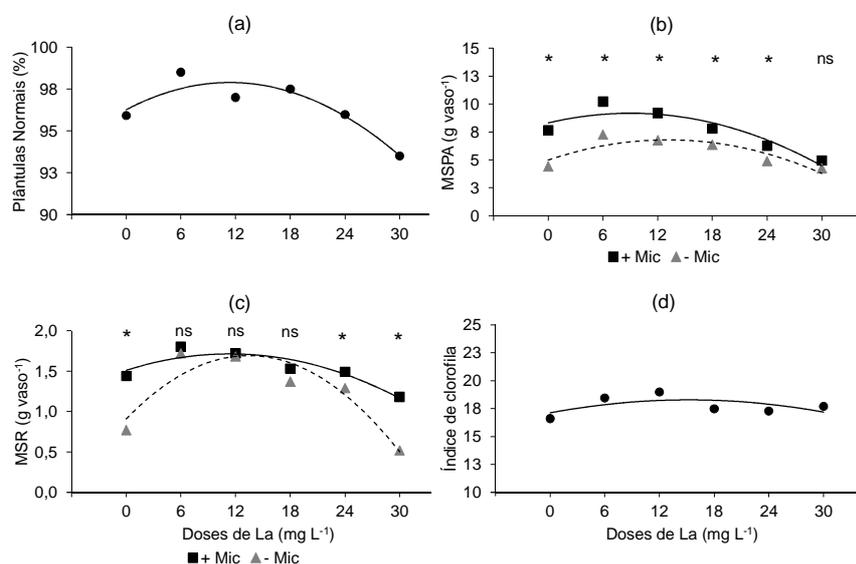


Figura 6 Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de La no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: *Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Na MSPA, as plantas do tratamento +Mic apresentaram maior produção que aquelas de -Mic, em todas as doses, exceto em 30 mg L^{-1} de La. Além disso, observou-se que a magnitude do benefício da inoculação com FMAs reduziu, à

medida que as doses de La aumentaram (Figura 6b), semelhante ao comportamento observado colonização micorrízica (Figura 2b). O crescimento máximo da parte aérea ocorreu com a aplicação de 9,02 mg L⁻¹ no tratamento +Mic e 13,12 mg L⁻¹ em -Mic (Tabela 7).

Na MSR verificou-se que a aplicação de La no tratamento de sementes afetou o crescimento das raízes, principalmente, nas plantas do tratamento -Mic. Observou-se que nas primeiras doses de La (6 – 18 mg L⁻¹) a produção de MSR de -Mic igualou-se com o tratamento +Mic. Contudo, nas doses 24 e 30 mg L⁻¹ de La houve drástica redução em MSR nas plantas -Mic, apresentando crescimento inferior às plantas +Mic (Figura 6c), sugerindo que a micorrização promove maior tolerância das plantas às doses tóxicas de La.

O índice de clorofila não foi influenciado pela aplicação de La no tratamento de sementes, contudo foi beneficiado pela inoculação das plantas com FMAs (Tabela 6 e 7). O índice de clorofila foi 20% maior em plantas +Mic que naquelas de -Mic (Tabela 9). Em espinafre, a aplicação de apenas 0,5 mg mL⁻¹ de La no tratamento de sementes, incrementou 32% do conteúdo de clorofila nas plantas (HONG; WEI; ZHAO, 2002), fato não observado no presente estudo.

Tabela 9 Índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de La e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variável	+Mic	-Mic
Índice de clorofila	19,36 A	16,15 B

+Mic: presença de propágulos de FMAs; -Mic: Ausência de propágulos de FMAs. Médias com mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%).

Independentemente da forma de aplicação de La, a inoculação com FMAs favoreceu o aumento no conteúdo de clorofila, sendo mais expressivo na aplicação via solo, com aumento de até 40%, assim como observado para Ce.

Diversos trabalhos têm mostrado que o aumento do conteúdo da clorofila pela micorrização parece ocorrer, principalmente, sob situações de estresse, situação que pode ter ocorrido também no presente estudo nas doses tóxicas de La. A micorrização das plantas pode contrabalancear o estresse por meio do aumento no conteúdo de clorofila e da taxa fotossintética (ZUCCARINI, 2007).

A aplicação de La no solo e no tratamento de sementes promoveu o crescimento das plantas de milho. Os resultados mostraram que as doses ótimas para o crescimento das plantas de milho foram de 34,53 mg dm⁻³ na aplicação em solo e de 9,02 mg L⁻¹ no tratamento de sementes. Concentrações acima destas causaram reduções no crescimento das plantas de milho. Na literatura, tem sido relatado que, em concentrações tóxicas, o La pode interferir no funcionamento e na estrutura celular. Seu excesso pode promover desintegração do citoesqueleto e da membrana plasmática, tanto pelo deslocamento do Ca²⁺ quanto pela indução da célula ao estresse oxidativo e, posterior, peroxidação lipídica da membrana. Os danos fisiológicos causados pela toxidez de La são irreversíveis e refletem no crescimento das plantas (LIU; HASENSTEIN, 2005; ZENG et al., 2006), como mostrado no presente estudo.

4.1.4 Efeitos da aplicação de Neodímio (Nd) ao solo e nas sementes de milho

O resumo da análise de variância de MSPA, MSR e índice de clorofila são apresentados na Tabela 10. Na aplicação de Nd no solo, apenas MSR apresentou interação significativa entre os fatores avaliados (dose e micorriza). A MSPA e o índice de clorofila tiveram efeitos isolados desses fatores e, por isso, seus resultados são apresentados separadamente na Figura 8 (doses) e Tabela 12 (micorriza). No tratamento de sementes, houve interação significativa entre os fatores para todas as variáveis analisadas.

Tabela 10 Resumo da análise de variância (significância do teste F), de produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Nd no solo e no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variáveis	Doses	Mic	Doses x Mic	CV (%)
Aplicação no solo				
Matéria seca de parte aérea	0,000***	0,000***	0,13 ^{ns}	11,7
Matéria seca de raízes	0,000***	0,000***	0,000***	9,26
Índice de clorofila	0,000***	0,000***	0,10 ^{ns}	7,77
Aplicação no tratamento de sementes				
Matéria seca de parte aérea	0,000***	0,000***	0,007**	7,65
Matéria seca de raízes	0,000***	0,000***	0,000***	7,33
Índice de clorofila	0,03*	0,000***	0,002**	7,82

Mic: micorriza. CV: coeficiente de variação. ***Altamente significativo; **Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ns: não significativo.

A aplicação das doses Nd no solo promoveu comportamento crescente quadrático (Figura 8a) na MSPA de milho. A resposta máxima ocorreu com a adição de 29,58 mg dm⁻³ de Nd, com redução acentuada no crescimento acima desta (Tabela 11). Sobre o fator micorriza, constatou-se aumento de 25% na MSPA das plantas do tratamento +Mic comparadas àquelas do tratamento -Mic (Tabela 12).

Na MSR sob aplicação de Nd no solo, as plantas do tratamento -Mic não obtiveram significância na equação de regressão linear e no tratamento +Mic as doses corresponderam apenas a 69,78% da variação ocorrida na produção de MSR. Em +Mic, a maior produção de MSR ocorreu com 40,22 mg dm⁻³ de Nd, resultando em aumento de 28% em relação ao controle (Tabela 11). A inoculação com FMAs aumentou o crescimento radicular sob aplicação de Nd, exceto na dose de 60 mg dm⁻³ de Nd (Figura 8b), coincidindo com a redução na taxa de colonização micorrízica das raízes (Figura 1c). Os resultados do

presente estudo foram diferentes daqueles encontrados por Abasheeva et al. (2006) em milho. Esses autores mostraram que a aplicação de apenas $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ de Nd no solo reduziu 31% do crescimento radicular, além de diminuir o diâmetro e o peso seco das raízes.

Ainda na aplicação no solo, o maior índice de clorofila foi obtido com adição de $50,73 \text{ mg dm}^{-3}$ de Nd, com aumento de 18% em relação ao controle (Tabela 11). Apesar do comportamento quadrático decrescente acima desta dose (Figura 8c), a redução do índice de clorofila manteve-se maior que o controle até mesmo na maior dose de Nd, o qual obteve índice de clorofila 17% maior que o controle (Tabela 7). Quanto ao fator micorriza, observou-se que as plantas do tratamento +Mic apresentaram índice de clorofila 16% maior que àquelas do tratamento -Mic (Tabela 12).

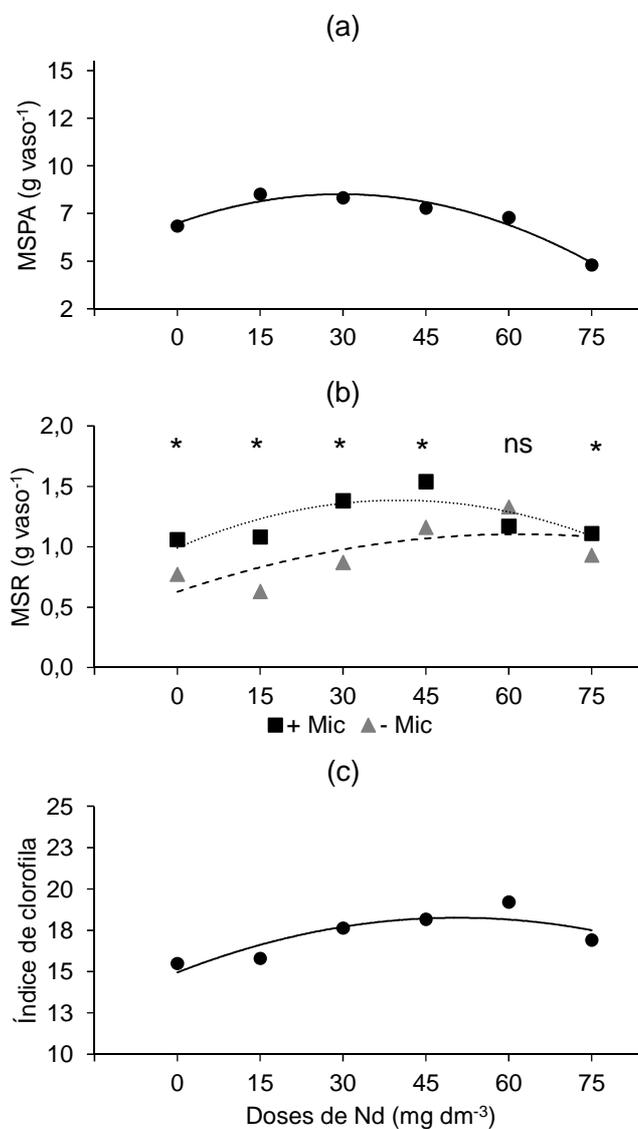


Figura 7 Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de Nd no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: *Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Tabela 11 Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso⁻¹), índice de clorofila e plântulas normais (%) de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Nd no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação

Variáveis		Equações de regressão linear	R ²	F-β ₂
Aplicação no solo				
Matéria seca de parte aérea	-Mic	Y= -0,0020 x ² + 0,1313 x + 5,2002	83,73	0,000***
	+Mic	Y= -0,0015 x ² + 0,0749 x + 7,7657	97,41	0,000***
Matéria seca de raízes	-Mic	Y= -0,0001 x ² + 0,0155 x + 0,6264	56,33	0,47 ^{ns}
	+Mic	Y= -0,0002 x ² + 0,0196 x + 0,9914	69,78	0,01*
Índice de Clorofila	-Mic	Y= -0,0015 x ² + 0,1506 x + 13,2998	89,25	0,03*
	+Mic	Y= -0,0011 x ² + 0,1109 x + 16,5857	36,81	0,04*
Aplicação no tratamento de sementes				
Plântulas normais	-	Y = -0,0749 x ² + 1,5641 x + 93,309	84,05	0,02*
Matéria seca de parte aérea	-Mic	Y = -0,0103 x ² + 0,2952 x + 4,5615	78,05	0,000***
	+Mic	Y = -0,0111 x ² + 0,2459 x + 7,7945	89,32	0,000***
Matéria seca de raízes	-Mic	Y = -0,0023 x ² + 0,0712 x + 0,9186	65,58	0,000***
	+Mic	Y = -0,0024 x ² + 0,0630 x + 1,4661	77,91	0,000***
Índice de Clorofila	-Mic	Y = 0,0076 x ² - 0,1215 x + 15,7548	75,38	0,05*
	+Mic	Y = -0,0062 x ² + 0,1941 x + 18,8355	13,35	0,12 ^{ns}

*** Altamente significativo; ** Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo.

Tabela 12 Matéria seca de parte aérea e índice de clorofila de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Nd e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variável	+Mic	-Mic-
MSPA (g vaso ⁻¹)	7,50 A	6,01 B
Índice de clorofila	18,49 A	15,88 B

+Mic: presença de propágulos de FMAs; -Mic: Ausência de propágulos de FMAs. Médias com mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%).

No estudo com tratamento de sementes, a aplicação de Nd promoveu comportamento quadrático crescente na porcentagem de plântulas normais (Figura 8a) com resposta máxima em 10,44 mg L⁻¹ de Nd, atingindo 100% de plântulas normais. Entretanto, quando foram aplicados 30 mg L⁻¹ de Nd a porcentagem de plântulas normais reduziu para cerca de 73% (Tabela 7), demonstrando toxidez do Nd nesta dose.

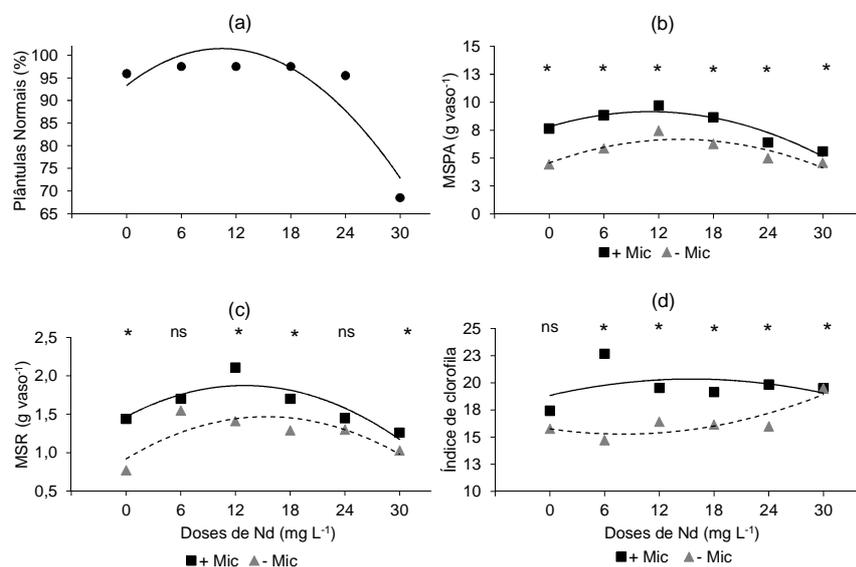


Figura 8 Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Nd no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: *Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Na Figura 8b, observa-se que a aplicação de Nd no tratamento de sementes juntamente com a inoculação com FMAs beneficiou a produção de MSPA de milho. As plantas do tratamento +Mic obtiveram maior crescimento radicular em todas as doses de Nd avaliadas. As doses de máxima resposta da aplicação de Nd no tratamento de sementes foram de 11,03 mg L⁻¹ em +Mic e de 14,29 mg L⁻¹ em -Mic (Tabela 11).

A produção de MSR apresentou comportamento muito semelhante à MSPA em relação às doses de Nd e à inoculação com FMAs (Figura 8c). As doses ótimas para o crescimento radicular foram de 12,98 mg L⁻¹ em +Mic e de 15,43 mg L⁻¹ em -Mic (Tabela 11).

No índice de clorofila, as doses de Nd, aplicadas no tratamento de sementes, não mostraram efeitos significativos em plantas do tratamento +Mic (Tabela 11). Entretanto, no tratamento -Mic, houve redução inicial do índice de clorofila até $7,99 \text{ mg L}^{-1}$ e, após esta, houve aumento até a maior dose (Figura 8d e Tabela 11). A inoculação com FMAs promoveu o aumento do índice de clorofila, sob aplicação de Nd ($6 - 30 \text{ mg L}^{-1}$), mas esse benefício reduziu conforme o aumento das doses de Nd (Figura 8d).

Os resultados demonstram que, em ambas as formas de aplicação avaliadas, a aplicação de Nd e a inoculação com FMAs promoveram o crescimento das plantas de milho e o índice de clorofila das folhas. A maior produção de MSPA ocorre em $29,58 \text{ mg dm}^{-3}$ de Nd aplicado no solo e com $14,29 \text{ mg L}^{-1}$ de Nd adicionado no tratamento de sementes. Nas raízes, estímulo semelhante foi observado nas duas formas de aplicação. A presença do Nd no metabolismo vegetal pode estimular a produção de hormônios relacionados ao crescimento radicular, tais como ácido indolacético, citocinina e auxinas, como relatado por Luo, Zhang e Wang (2008). Os benefícios do Nd, no incremento do índice de clorofila nas folhas, podem ser decorrentes dos mesmos efeitos também descritos para Ce e La. O Nd pode atuar, indiretamente, catalisando a formação da molécula de clorofila ou, ainda, substituir o Mg^{2+} nela presente (SHEN; KANG; JIN, 1999). A substituição do Mg^{2+} pelo Nd^{3+} no centro do anel porfírico da clorofila foi verificada *in vivo* e *in vitro* por Kang, Shen e Jin (2000).

O estímulo ao crescimento vegetal pela aplicação do Nd tem sido relacionado às melhorias promovidas no metabolismo mitocondrial, onde esse ETR pode atuar sinergicamente com o Ca e outros metais que participam da estrutura do complexo enzimático que atua na fosforilação oxidativa, o centro do metabolismo celular, promovendo maior produção de ATP. Por outro lado, sob dosagens tóxicas, o Nd pode danificar o DNA mitocondrial e induzir as plantas

ao estresse oxidativo e, com isso, prejudicar a estrutura e estabilidade da membrana celular (MEI et al., 2011; WANG; JI; TIAN, 2011).

4.1.5 Efeitos da aplicação de Ítrio (Y) ao solo e nas sementes de milho

O resumo da análise de variância de MSPA, MSR e índice de clorofila das plantas de milho submetidas à aplicação de Y no solo e no tratamento de sementes são mostrados na Tabela 13. Na aplicação no solo, houve interação significativa entre os fatores estudados (doses e micorriza) na MSPA e índice de clorofila. A MSR apresentou apenas efeitos isolados e, portanto, seus resultados são mostrados separadamente na Figura 9 (doses) e na Tabela 15 (micorriza). Na aplicação no tratamento de sementes, a MSPA e MSR apresentaram interação significativa entre doses e micorriza, o que não ocorreu com o índice de clorofila.

Tabela 13 Resumo da análise de variância (significância do teste F) da produção de matéria seca de parte aérea e de raízes e índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Y no solo e no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variáveis	Doses	Mic	Doses x Mic	CV (%)
Aplicação no solo				
Matéria seca de parte aérea	0,000***	0,000***	0,000***	13,2
Matéria seca de raízes	0,000***	0,002**	0,31 ^{ns}	11,1
Índice de clorofila	0,000***	0,000***	0,000***	6,6
Aplicação no tratamento de sementes				
Matéria seca de parte aérea	0,000***	0,000***	0,000***	8,15
Matéria seca de raízes	0,000***	0,000***	0,000***	7,79
Índice de clorofila	0,000***	0,000***	0,24 ^{ns}	6,83

Mic: micorriza. CV: coeficiente de variação. ***Altamente significativo; **Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ns: não significativo.

O aumento da produção de MSPA pela aplicação de Y no solo ocorreu apenas em plantas do tratamento +Mic, com resposta máxima na adição de $15,52 \text{ mg dm}^{-3}$. No tratamento -Mic, a aplicação de Y reduziu a MSPA em todas as doses (Figura 9a). A redução no crescimento de plantas pela aplicação de 50 mg dm^{-3} Y no solo também foi constatado por Rediske e Selders (1954) em trigo, feijão e tomate.

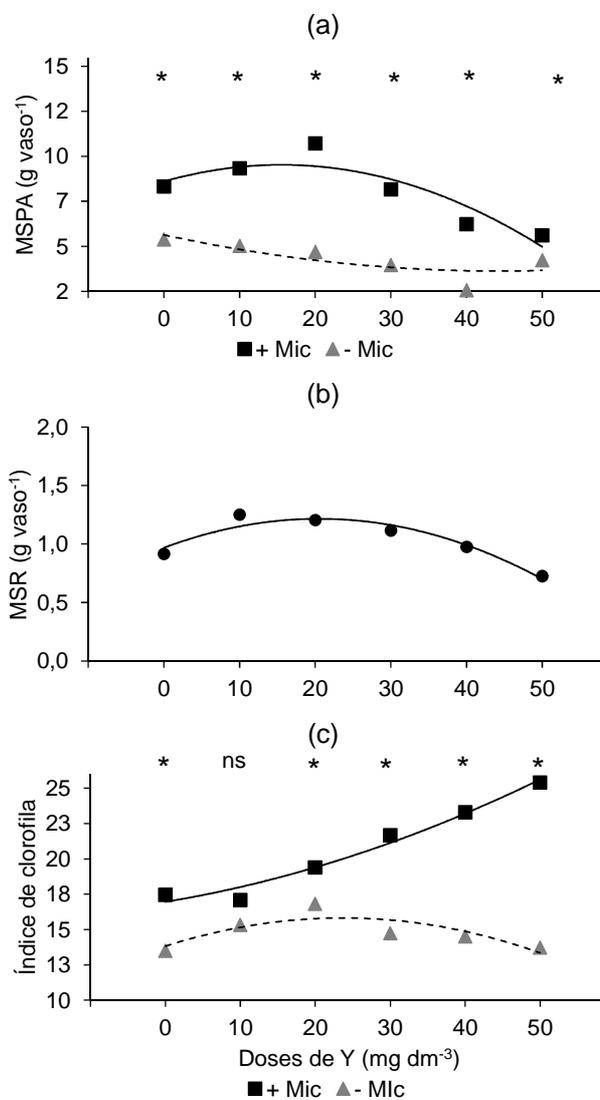


Figura 9 Matéria seca de parte aérea (a), matéria seca de raízes (b) e índice de clorofila (c) de milho submetido à aplicação de Y no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: * Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Tabela 14 Equações da regressão linear de produção de matéria de parte aérea e de raízes de milho (g vaso⁻¹), plântulas normais (%) e índice de clorofila de milho submetido à inoculação com FMAs e aplicação de Y no solo ou no tratamento de sementes, em casa de vegetação

Variáveis		Equações de regressão linear	R ²	F-β ₂
Aplicação de Y no solo				
Matéria seca de parte aérea	-Mic	$Y = 0,0010 x^2 - 0,0911 x + 5,1388$	63,08	0,05*
	+Mic	$Y = -0,0038 x^2 + 0,1189 x + 8,1032$	81,19	0,000***
Matéria seca de raízes	Média	$Y = -0,0006 x^2 + 0,0241 x + 0,9670$	63,82	0,000***
Índice de Clorofila	-Mic	$Y = -0,0036 x^2 + 0,1685 x + 13,8282$	66,94	0,002**
	+Mic	$Y = 0,0017 x^2 + 0,0878 x + 16,9596$	97,43	0,01**
Aplicação de Y no tratamento de sementes				
Plântulas normais	-	$Y = -0,0164 x^2 + 0,332 x + 96,909$	81,02	0,000***
Matéria seca de parte aérea	-Mic	$Y = -0,0035 x^2 + 0,0771 x + 4,4840$	93,52	0,01**
	+Mic	$Y = -0,0065 x^2 + 0,0816 x + 7,9573$	87,52	0,000***
Matéria seca de raízes	Média	$Y = -0,0023 x^2 + 0,0517 x + 0,8664$	86,97	0,000***
Índice de Clorofila	Média	$Y = -0,0092 x^2 + 0,3454 x + 16,2424$	86,59	0,000***

*** Altamente significativo; ** Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ^{ns} Não significativo.

Tabela 15 Matéria seca de raízes de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Y e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variável	+Mic	-Mic
MSR (g vaso ⁻¹)	1,10 A	0,97 B

+Mic: presença de propágulos de FMAs; -Mic: Ausência de propágulos de FMAs. Médias com mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%).

A aplicação de Y no solo promoveu o crescimento das raízes de milho de forma semelhante ao observado na MSPA do tratamento +Mic (Figura 9b). A melhor resposta da MSR ocorreu com a aplicação de 20,52 mg dm⁻³ de Y onde promoveu acréscimo de 26% no crescimento radicular comparado ao controle (Tabela 14). A respeito do fator micorriza, observa-se, na Tabela 15, que a inoculação beneficiou o crescimento radicular, com acréscimo de 13% na MSR das plantas de +Mic em relação àquelas de -Mic.

A resposta do índice de clorofila às doses de Y apresentou comportamento distinto entre os tratamentos +Mic e -Mic (Figura 9c). Na presença de FMAs (+Mic), verificou-se um aumento contínuo no índice de clorofila em todas as doses de Y avaliadas, exceto em 10 mg dm⁻³. Na maior dose de Y, as plantas do tratamento +Mic apresentaram índice de clorofila 93% maior que o controle. No tratamento -Mic, houve incremento no índice de clorofila na adição de até 25,67 mg dm⁻³ de Y (Tabela 14). O aumento de clorofila em doses altas de Y também foi verificado em trigo submetido à aplicação de 100 mg dm⁻³ de Y. Contudo seu efeito tóxico resultou em sérios danos ao sistema de defesa antioxidante da planta e, por isso, reduziu o crescimento das plantas mesmo com aumento do conteúdo de clorofila (FENG; ZHU; LI, 2013), assim como observado neste estudo em doses superiores a 15,52 mg dm⁻³ de Y.

No estudo onde se avaliou a aplicação de Y no tratamento de sementes, os resultados foram semelhantes aos observados na sua aplicação no solo. Os

efeitos da aplicação de Y no tratamento de sementes sobre a porcentagem de plântulas normais, MSPA, MSR e índice de clorofila são apresentados na Figura 9 e os resultados da análise de regressão linear na Tabela 14.

A porcentagem de plântulas normais de milho atingiu a máxima resposta, 96%, com a adição de 10,12 mg L⁻¹ de Y (Tabela 14) e apresentou efeito tóxico nas superiores a esta (Figura 10a). Em estudo realizado em tomate e rabanete, Thomas et al. (2014) verificaram que a presença de Y no solo reduziu a germinação dessas espécies, mesmo em doses muito baixas.

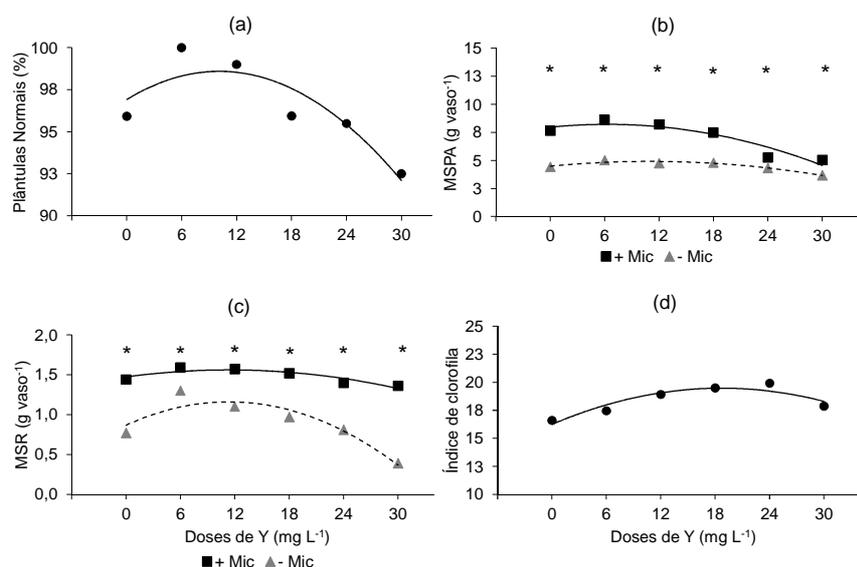


Figura 10 Porcentagem de plântulas normais (a), matéria seca de parte aérea (b), matéria seca de raízes (c) e índice de clorofila (d) de milho cultivado em solo submetido à aplicação de Y no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: *Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

A inoculação com FMAs (+Mic) aumentou a produção de MSPA em todas as doses de Y aplicadas no tratamento de sementes (Figura 10b). Em relação às doses de Y, o maior crescimento de MSPA foi atingindo com 6,28 mg L⁻¹ (+3%) no tratamento +Mic e com 11,05 mg L⁻¹ no tratamento -Mic (+9%), conforme fornece a equação de regressão linear (Tabela 14).

Assim como observado na MSPA, a produção e MSR foram estimuladas pela micorrização (+Mic) em todas as doses de Y. A maior produção de MSR de milho ocorreu com a adição de 11,40 mg L⁻¹ de Y em ambos os tratamentos de micorriza (+Mic e -Mic) (Tabela 14). Nota-se ainda que a redução da MSR pelo aumento das doses de Y foi mais severa nas plantas do tratamento -Mic que naquelas do tratamento +Mic (Figura 10c).

A aplicação do Y no tratamento de sementes aumentou o índice de clorofila nas folhas de milho (Figura 10d) com resposta máxima em 18,71 mg L⁻¹ de Y, onde houve aumento de 20% em relação ao controle (Tabela 14). Apesar da redução verificada, nas doses superiores a 18,71 mg L⁻¹, ainda na maior dose de Y, houve aumento de 13% no índice de clorofila em relação ao controle (Tabela 14). A respeito do fator micorriza, assim como na aplicação em solo, houve aumento no índice de clorofila com a inoculação com FMAs, como apresenta a Tabela 16.

Tabela 16 Índice de clorofila de milho submetido à aplicação de Y no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Variável	+Mic	-Mic
Índice de clorofila	19,74 A	17,02 B

+Mic: presença de propágulos de FMAs; -Mic: Ausência de propágulos de FMAs. Médias com mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%).

Ainda existe pouca informação disponível sobre a influência isolada de Y no crescimento de plantas, especialmente sobre aquelas de interesse agrícola,

sendo a maioria dos trabalhos conduzidos com mix de ETRs ou com Ce e La. Os resultados do presente estudo comprovaram que, em doses adequadas, a aplicação de Y no solo ou no tratamento de sementes pode trazer benefícios ao crescimento de milho. Assim como relatado para La, Ce e Nd, o Y^{3+} pode substituir o Mg^{2+} da clorofila, formando Y-clorofila, o que contribui para o aumento do conteúdo de clorofila nos cloroplastos (WEI et al., 2005). Após sua absorção, o Y tende a acumular-se em maior quantidade nas células radiculares, onde exerce efeitos no metabolismo vegetal. Nas células, pode ligar-se aos ácidos nucleicos, prejudicando a divisão celular e arranjo normal das células. É relatado ainda que o Y, em concentrações tóxicas, pode atuar como a colchicina, inibindo a formação das proteínas do fuso mitótico e, portanto, prejudicando a multiplicação celular (KASTORI et al., 2010). O efeito do Y sobre plantas de milho foi relatado apenas por Maksimovic et al. (2014). Esses autores verificaram que a aplicação de $8,90 \text{ mg L}^{-1}$ (10^{-4} M) em solução nutritiva reduziu a área foliar, o comprimento e a largura dos estômatos nas folhas. Relataram ainda o aumento na densidade de estômatos, redução no conteúdo de clorofila, na taxa fotossintética e no crescimento da parte aérea e de raízes. Os efeitos relatados são semelhantes àqueles observados em plantas submetidas a estresse hídrico e, por isso, os autores afirmam que tal comportamento ocorre porque o Y é capaz de reduzir o conteúdo de água nas células.

4.1.6 Teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e raízes de milho

Em comparação ao padrão certificado AquaticPlant (BR-460), os teores obtidos neste estudo apresentaram recuperação média de 94% para Ce, 95% para La, 94% para Nd e 97% para Y. O resumo da análise de variância dos teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e nas raízes de milho, em ambas as formas de aplicação, é apresentado na Tabela 17. Na aplicação no solo, houve interação

significativa entre os fatores avaliados (doses e micorriza) para o teor dos quatro ETRs avaliados tanto na raiz quanto na parte aérea. Na aplicação no tratamento de sementes apenas os teores de parte aérea de Ce e La e de Ce nas raízes não apresentaram interação significativa entre os fatores, apenas efeitos isolados e, portanto, seus resultados são apresentados isoladamente na Figura 12 e Tabela 19.

Tabela 17 Resumo da análise de variância (significância do teste F) do teor de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e nas raízes de milho submetido à sua aplicação no solo ou no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

	ETR	Doses	Mic	Doses x Mic	CV (%)
Aplicação no solo					
Ce	Parte aérea	0,000***	0,02*	0,002**	24,71
	Raiz	0,000***	0,000***	0,000***	8,49
La	Parte aérea	0,000***	0,000***	0,000***	13,87
	Raiz	0,000***	0,000***	0,000***	9,60
Nd	Parte aérea	0,000***	0,000***	0,000***	4,17
	Raiz	0,000***	0,000***	0,000***	4,11
Y	Parte aérea	0,000***	0,000***	0,000***	8,58
	Raiz	0,000***	0,000***	0,000***	4,38
Aplicação no tratamento de sementes					
Ce	Parte aérea	0,000***	0,000***	0,14 ^{ns}	19,51
	Raiz	0,000***	0,000***	0,07 ^{ns}	15,44
La	Parte aérea	0,007**	0,007**	0,93 ^{ns}	23,04
	Raiz	0,000***	0,000***	0,001**	11,03
Nd	Parte aérea	0,000***	0,18 ^{ns}	0,000***	14,92
	Raiz	0,000***	0,000***	0,000***	22,91
Y	Parte aérea	0,000***	0,000***	0,000***	9,76
	Raiz	0,000***	0,000***	0,000***	11,54

Mic: micorriza. CV: coeficiente de variação. ***Altamente significativo; **Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ns: não significativo.

Os teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e nas raízes de milho submetido à aplicação desses ETRs, no solo e inoculação com FMAs, são apresentados na Figura 11 e os resultados dos teores desses ETRs, sob aplicação no tratamento de sementes, são mostrados na Figura 12. A aplicação desses ETRs aumentou seus teores em todas as partes da planta nas duas formas de aplicação, com acréscimo maior na aplicação no solo, o que já era esperado uma vez que as doses aplicadas foram maiores que no tratamento de sementes. Em todas as formas de aplicação, nos quatro ETRs testados, as concentrações foram expressivamente superiores nas raízes em detrimento da parte aérea, como já relatado em outros estudos (EMMANUEL et al., 2010b; WANG et al., 2001).

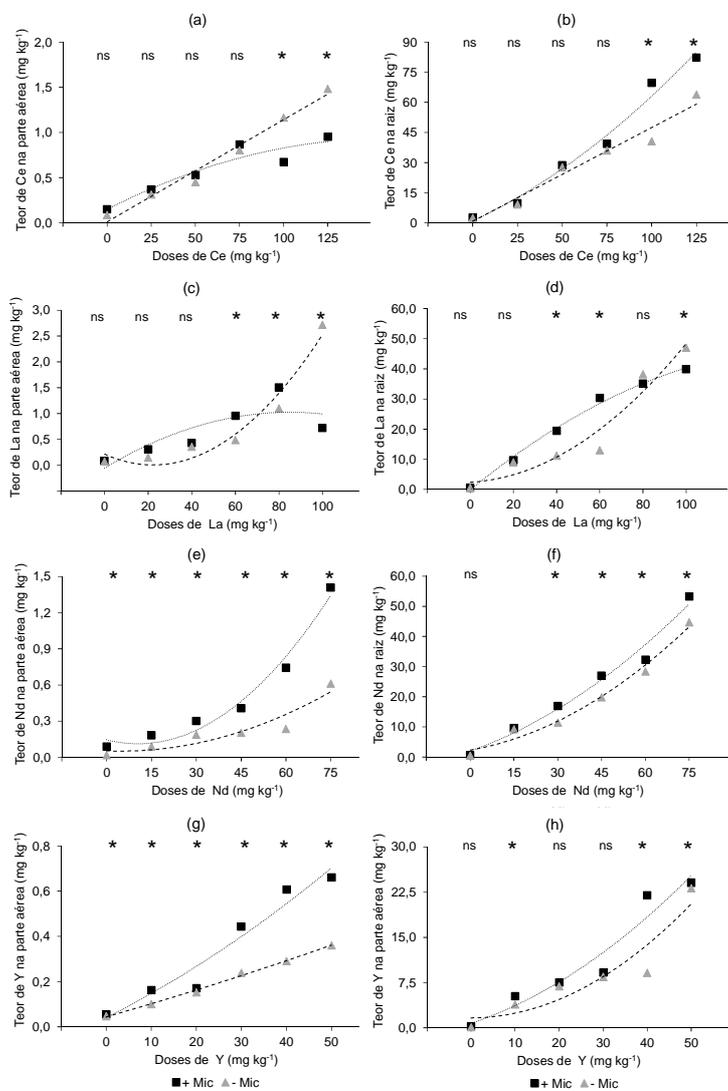


Figura 11 Teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea (a, c, e, g) e nas raízes (b, d, f, h) de milho submetido à aplicação desses ETRs no solo e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: * Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamentos não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

Tabela 18 Equações da regressão linear do teor de Ce, La, Nd e Y na parte aérea e nas raízes de milho submetido à sua aplicação no solo ou no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

ETR		Equações de regressão linear	R ²	F-β ₂
Aplicação no solo				
Teor na parte aérea				
Ce	-Mic	Y = 0,0112 x + 0,0096	97,97	0,000***
	+ Mic	Y = 0,0060 x + 0,2144	85,76	0,000***
La	-Mic	Y = 0,0004 x ² - 0,0185 x + 0,2114	95,52	0,000***
	+ Mic	Y = -0,00015 x ² + 0,0253 x - 0,0542	67,77	0,000***
Nd	-Mic	Y = 0,0001 x ² - 0,0010 x + 0,0563	87,84	0,000***
	+ Mic	Y = 0,0003 x ² - 0,0062 x + 0,1454	97,62	0,000***
Y	-Mic	Y = 0,0063 x + 0,0408	99,51	0,000***
	+ Mic	Y = 0,000065 x ² + 0,0099 x + 0,0417	94,69	0,007**
Teor nas raízes				
Ce	-Mic	Y = 0,4677 x + 0,7587	96,17	0,000***
	+ Mic	Y = 0,0020 x ² + 0,4149 x + 0,9927	98,36	0,000***
La	-Mic	Y = 0,0042 x ² + 0,0408 x + 2,4056	93,85	0,000***
	+ Mic	Y = - 0,0018 x ² + 0,5884 x - 0,1533	99,44	0,000***
Nd	-Mic	Y = 0,0050 x ² + 0,1695 x + 2,2988	98,38	0,000***
	+ Mic	Y = 0,0041 x ² + 0,3404 x + 1,9939	97,76	0,000***
Y	-Mic	Y = 0,0075 x ² + 0,0031 x + 1,6504	87,84	0,000***
	+ Mic	Y = 0,0049 x ² + 0,2448 x + 0,7454	93,82	0,000***

“Tabela 18, conclusão”

Aplicação no tratamento de sementes				
Teor na parte aérea				
Ce	Média	$Y = 0,0002 x^2 - 0,00405 x + 0,1155$	60,49	0,000***
La	Média	$Y = -0,00005 x^2 + 0,0015 x + 0,0186$	97,02	0,000***
Nd	-Mic	$Y = 0,0003 x^2 + 0,0109$	80,77	0,000***
	+ Mic	$Y = 0,00003 x^2 - 0,00015 x + 0,0086$	96,33	0,000***
Y	-Mic	$Y = 0,00009 x^2 - 0,0015 x + 0,0095$	86,16	0,000***
	+ Mic	$Y = 0,00011 x^2 - 0,0012 x + 0,0081$	91,49	0,000***
Teor nas raízes				
Ce	Média	$Y = -0,0067 x^2 + 0,2430 x + 2,3226$	87,47	0,000***
La	-Mic	$Y = 0,0019 x^2 - 0,0092 x + 0,5908$	95,89	0,000***
	+ Mic	$Y = 0,0008 x^2 + 0,0423 x + 0,7365$	93,51	0,04*
Nd	-Mic	$Y = 0,0486 x + 0,4385$	96,98	0,000***
	+ Mic	$Y = 0,0134 x^2 - 0,02062 x + 1,044$	89,59	0,000***
Y	-Mic	$Y = 0,0199 x + 0,1425$	95,39	0,000***
	+ Mic	$Y = 0,0479 x + 0,1549$	91,72	0,000***

-Mic: ausência de inoculação com propágulos de FMAs; +Mic: presença de inoculação com propágulos de FMAs; *** Altamente significativo; ** Significativo a 1%; * Significativo a 5%; ns: não significativo

No estudo com aplicação de ETRs no solo, o teor de Ce na parte aérea de milho foi afetado pela inoculação com FMAs apenas nas duas maiores doses (100 e 125 mg dm⁻³), onde se observou que o tratamento +Mic apresentou menor concentração de Ce (Figura 11a). Em contrapartida, nessas mesmas doses houve aumento no teor de Ce nas raízes (Figura 11b), o que sugere que os FMAs podem reduzir a translocação de Ce para parte aérea em situações de altas concentrações de Ce no solo.

Na aplicação de La no solo, a inoculação com FMAs interferiu o teor de La, na parte aérea nas três maiores doses, 60, 80 e 100 mg dm⁻³ (Figura 11c). Nota-se que, inicialmente, na dose de 60 mg dm⁻³, as plantas do tratamento +Mic obtiveram maior teor de La, entretanto, nas duas outras doses o comportamento se inverteu, em que as plantas inoculadas com FMAs (+Mic) apresentaram menor teor de La que aquelas de -Mic. Nas raízes, o teor de La seguiu o mesmo comportamento da parte aérea (Figura 11d).

Os teores de Nd e Y na parte aérea foram maiores nas plantas do tratamento +Mic que naquelas do tratamento -Mic em todas as doses avaliadas (Figura 11e, g). Nas raízes, o teor de Nd na parte aérea das plantas +Mic foi superior às plantas -Mic nas doses de 30 a 75 mg dm⁻³. Quanto ao teor de Y nas raízes, houve aumento nas plantas +Mic em relação às plantas -Mic nas duas maiores doses, 40 e 50 mg dm⁻³ (Figura 11f, h).

Nas aplicações de ETRs no solo, constatou-se que a resposta dos teores de Ce e La, na parte aérea e nas raízes quanto à inoculação, foi muito semelhante. Esse comportamento pode indicar que, sob altas concentrações de Ce e La no solo, a colonização micorrízica promove proteção às plantas de milho, uma vez que pode reduzir sua translocação para a parte aérea. Por outro lado, sob aplicação de Nd e Y no solo, a inoculação com FMAs promoveu aumento nos teores desses ETRs nas raízes e na parte aérea, principalmente, nas maiores doses.

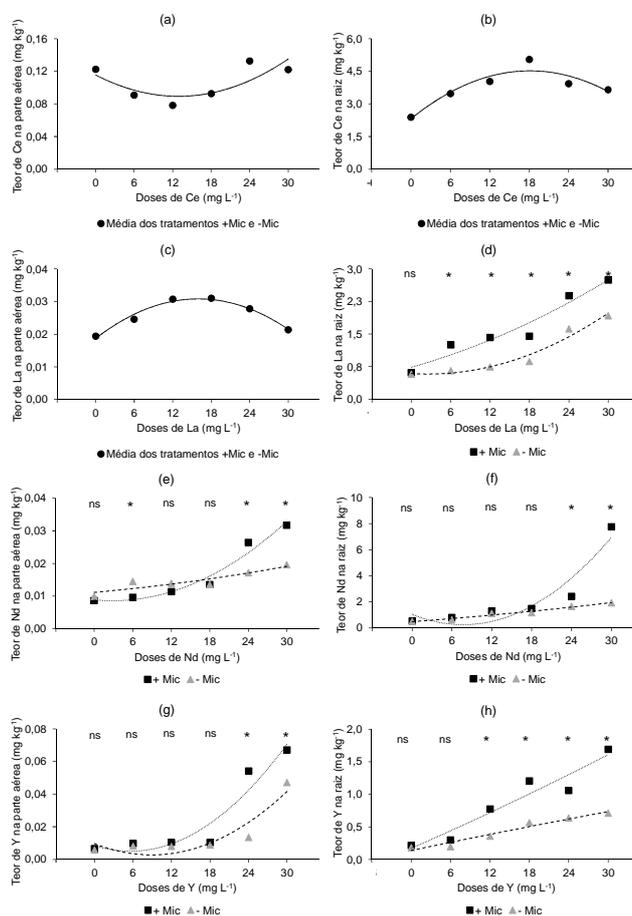


Figura 12 Teores de Ce, La, Nd e Y na parte aérea (a, c, e, g) e nas raízes (b, d, f, h) de milho submetido à aplicação desses ETRs no tratamento de sementes e inoculação com FMAs, em casa de vegetação

Legenda: * Dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) diferem entre si (Tukey, 5%). ns: dentro da mesma dose, média do tratamento não inoculado (-Mic) e inoculado com FMAs (+Mic) não diferem entre si (Tukey, 5%).

A aplicação de Ce no tratamento de sementes promoveu, inicialmente, redução no teor de Ce na parte aérea e, após a dose de 10,12 mg L⁻¹ houve aumento do seu teor. A redução no teor de Ce pode estar relacionada com o

aumento no crescimento das plantas e milho, verificado nessa mesma faixa, o que pode ter promovido efeito de diluição do elemento na parte aérea (Figura 12a). Nas raízes, houve resposta contrária, com aumento do teor de Ce e posterior redução (Figura 12b). Em relação ao fator micorriza, nota-se que a inoculação das plantas com FMAs proporcionou aumento no teor de Ce na parte aérea e nas raízes, como apresenta a Tabela 19.

Tabela 19 Teor de Ce na parte aérea e nas raízes e teor de La na parte aérea de milho submetido a sua aplicação no tratamento de sementes e inoculação com FMAs

Variável	+ Mic	- Mic
Teor de Ce na parte aérea	0,126 A	0,086 B
Teor de Ce nas raízes	4,165 A	3,341 B
Teor de La na parte aérea	0,029 A	0,022 B

+Mic: presença de propágulos de FMAs; -Mic: Ausência de propágulos de FMAs. Médias com mesma letra, na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%).

Na parte aérea, o teor de La aumentou até a dose 15 mg L⁻¹ de La, havendo redução posteriormente (Figura 12c). Quanto ao fator micorriza, observa-se que as plantas do tratamento +Mic apresentaram teor de La na parte aérea 32% maior que as plantas do tratamento -Mic (Tabela 19). Nas raízes, houve aumento crescente do teor de La, em relação às doses e a inoculação com FMAs também promoveu maior acúmulo de La em relação às plantas do tratamento -Mic (Figura 12d).

Para Nd, as doses aplicadas no tratamento de sementes aumentaram proporcionalmente os teores na parte aérea e nas raízes. Os tratamentos +Mic, tanto na parte aérea quanto nas raízes, aumentaram o teor de Nd somente nas duas maiores doses (24 e 30 mg L⁻¹), não havendo diferenças entre +Mic e -Mic nas doses inferiores (Figura 12e,f).

O acúmulo de Y nas plantas de milho também aumentou proporcionalmente as doses de Y aplicadas no tratamento de sementes. Na parte aérea, o teor de Y foi semelhante entre as plantas dos tratamentos +Mic e -Mic até a dose 18 mg L^{-1} , acima desta verificou-se que a inoculação aumentou o teor de Y (Figura 12g). Nas raízes, o efeito da inoculação ocorreu a partir da dose de 12 mg L^{-1} de Y, onde houve maior teor de Y nas plantas do tratamento +Mic comparadas a -Mic (Figura 12h).

Os quatro ETRs avaliados, Ce, La, Nd e Y, são elementos com propriedades químicas e físicas bastante semelhantes, e tal similaridade se refletiu nos seus efeitos no crescimento de milho e na colonização micorrízica. Assim, como observado em outros estudos (WANG et al., 2012a; ZENG et al., 2006), a aplicação de ETRs apresentou efeito hormese em forma de “U invertido”, comprovando o benefício à planta e à simbiose em doses baixas e a inibição em doses mais elevadas. Fato interessante foi observado nas raízes em doses tóxicas (onde houve redução do crescimento) nos quatro ETRs avaliados. Além da redução no crescimento radicular, constatou-se redução dos pelos radiculares e engrossamento das raízes tanto nas plântulas quanto nas plantas adultas.

Para o fornecimento de micronutrientes, a aplicação no tratamento de sementes tem sido preconizada quando há pequena disponibilidade destes no solo, prevenindo deficiências no crescimento inicial das culturas. Em relação aos ETRs avaliados, em virtude da forte interação com a solução e fase sólida do solo, a aplicação no tratamento de sementes também apresenta-se como alternativa viável, desde que respeitem-se as doses ótimas para não comprometer a qualidade fisiológica das sementes. Em contrapartida, a aplicação no solo pode disponibilizar mais lenta e continuamente esses ETRs às plantas. Portanto, já que ambas as formas de aplicação de ETRs podem incrementar o crescimento de milho, a escolha entre elas deve levar em consideração fatores como as

características químicas e mineralógicas do solo e a época de aplicação nas plantas.

O comportamento dos quatro ETRs no conteúdo de clorofila nas folhas é bastante similar, uma vez que para todos é relatada capacidade de substituição do Mg^{2+} , na molécula de clorofila, bem como catálise da biossíntese desse pigmento, como relatado anteriormente (HONG et al., 2002; HONG; WEI; ZHAO, 2002). A inoculação com FMAs, também, favoreceu o aumento do índice de clorofila nas plantas. Em plantas micorrizadas, esse aumento tem sido relatado em plantas submetidas a algum tipo de estresse, como excesso de sais e déficit hídrico (SHENG et al., 2008; ZUCCARINI, 2007).

Apesar dos ETRs Ce, La, Nd e Y não estarem listados como elementos essenciais ou benéficos às plantas, os resultados do presente estudo sugerem que a aplicação individual de $57,39 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ce, $34,53 \text{ mg dm}^{-3}$ de La, $29,58 \text{ mg dm}^{-3}$ de Nd e $15,52 \text{ mg dm}^{-3}$ de Y no solo ou de $11,35 \text{ mg L}^{-1}$ de Ce, $9,02 \text{ mg L}^{-1}$ de La, $11,03 \text{ mg L}^{-1}$ de Nd e $6,28 \text{ mg L}^{-1}$ de Y no tratamento de sementes pode estimular o metabolismo vegetal e, por consequência, o crescimento das plantas de milho.

4.2 Estudo 2: Aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y no solo, na aplicação foliar ou no tratamento de sementes de milho em campo

O resumo da análise de variância (significância do teste F) da produção de grãos, índice de clorofila, atividade fotossintética, atividade transpiratória, condutância estomática, colonização micorrízica, densidade de esporos de FMAs, teores e fator de translocação de Zn, Ce, La, Nd e Y nas raízes, folhas e grãos de milho é apresentado na Tabela 20. Interação significativa entre os fatores formas de aplicação e combinações entre Zn e ETRs ocorreu, para a

maioria das variáveis analisadas, com exceção do teor de Zn na parte aérea, colonização micorrízica e densidade de esporos de FMAs.

Tabela 20 Resumo da análise de variância (significância do teste F) de produção de grãos, índice de clorofila, atividade fotossintética, atividade transpiratória, condutância estomática, colonização micorrízica, densidade de esporos de FMAs, teores e fator de translocação de Zn, Ce, La, Nd e Y nas raízes, folhas e grãos de milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Variável	Bloco	Forma de aplicação	ETRs e Zn	F.A x ETRs e Zn	Controle x Fatorial	CV (%)
Produção de grãos	0,71 ^{ns}	0,000***	0,003**	0,000***	0,33 ^{ns}	4,00
Índice de clorofila	0,58 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,008**	2,37
Atividade fotossintética	0,06 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,002**	0,000***	7,70
Atividade transpiratória	0,83 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	7,78
Condutância estomática	0,25 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,004**	0,000***	0,000***	11,94
Colonização micorrízica	0,28 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,009**	0,45 ^{ns}	0,80 ^{ns}	46,28
Densidade de esporos	0,93 ^{ns}	0,04*	0,11 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,62 ^{ns}	39,43
Teor de Zn nas raízes	0,73 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,20 ^{ns}	8,11
Teor de Zn na folha	0,23 ^{ns}	0,01**	0,000***	0,16 ^{ns}	0,003**	7,86
Teor de Zn no grão	0,22 ^{ns}	0,02*	0,000***	0,000***	0,000***	7,35
Teor de Ce nas raízes	0,41 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	16,75
Teor de Ce na folha	0,88 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	11,24

“Tabela 20, conclusão”

Variável	Bloco	Forma de aplicação	ETRs e Zn	F.A x ETRs e Zn	Controle x Fatorial	CV (%)
Teor de Ce no grão	0,37 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	9,43
Fator de translocação de Ce	0,96 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,01**	0,000***	0,54 ^{ns}	18,25
Teor de La nas raízes	0,88 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	15,42
Teor de La na folha	0,14 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	7,05
Teor de La no grão	0,52 ^{ns}	0,01**	0,000***	0,02*	0,000***	12,23
Fator de translocação de La	0,82 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,22 ^{ns}	17,61
Teor de Nd nas raízes	0,46 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	10,56
Teor de Nd na folha	0,65 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	4,69
Teor de Nd no grão	0,36 ^{ns}	0,01**	0,000***	0,000***	0,000***	10,17
Fator de translocação de Nd	0,04*	0,000***	0,000***	0,000***	0,000***	8,22
Teor de Y nas raízes	0,61 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,006**	0,000***	9,30
Teor de Y na folha	0,55 ^{ns}	0,03*	0,000***	0,000***	0,000***	9,85
Teor de Y no grão	0,18 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,002**	0,000***	9,87
Fator de translocação de Y	0,38 ^{ns}	0,000***	0,000***	0,009**	0,08 ^{ns}	19,48

F.A.: forma de aplicação. CV: coeficiente de variação; ***Altamente significativo; **Significativo a 1%; *Significativo a 5%; ^{ns} não significativo.

A produção de grãos de milho, obtida nas diferentes formas de aplicação do mix de ETRs e suas combinações com Zn, é mostrada na Tabela 21. A aplicação foliar do mix de ETRs promoveu aumento da produção de grãos, o que representou um ganho de 23 sc ha⁻¹ em relação ao controle. A aplicação do mix no tratamento de sementes, apesar de apresentar produção de grãos estatisticamente semelhante à aplicação foliar, não diferiu do controle. A aplicação do mix de ETRs no solo também não favoreceu o aumento da produção de grãos. Quanto à interação entre ETRs e Zn, respostas distintas foram obtidas em cada forma de aplicação. Na aplicação foliar, o tratamento ETRs + Zn foi semelhante ao tratamento Zn, contudo, estes foram inferiores à aplicação individual do mix de ETRs. Na aplicação do mix, no tratamento de sementes, a maior produção foi obtida no tratamento Zn e a aplicação conjunta de Zn e ETRs reduziu a produção de grãos. Nota-se, nesse caso, que a adição de Zn ao mix de ETRs promoveu antagonismo entre esses elementos e resultou na redução da produção de grãos em 31sc ha⁻¹ na aplicação foliar e de 15 sc ha⁻¹ na aplicação no tratamento de sementes. Na aplicação no solo nenhuma interação foi verificada.

Tabela 21 Produção de grãos de milho (kg ha⁻¹) submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

F.A.	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Controle	12595,24			
Foliar		13997,02 aA*	12127,98 bB	11375,00 cB
Semente		13315,48 abAB	12907,74 abB	13821,43 aA*
Solo		12505,95 bA	13002,68 aA	12583,33 bA

F.A.: forma de aplicação. Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%)

O aumento na produção de grãos, verificado no presente estudo, é superior ao obtido por Xu e Wang (2007). Esses autores obtiveram aumento de produção de 8 sc ha⁻¹ com a aplicação de 10 kg ha⁻¹ de mix de ETRs por meio da fertirrigação em milho. Por outro lado, Espindola, Menezes e Barbieri (2013) verificaram aumento na produção de grãos de milho em 31 sc ha⁻¹ com a aplicação de 20 mg L⁻¹ de Ce no tratamento de sementes.

Os resultados do índice de clorofila, atividade fotossintética líquida, atividade transpiratória e condutância estomática são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 Índice de clorofila, atividade fotossintética líquida, atividade transpiratória e condutância estomática de milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Índice de clorofila				
Controle	51,31			
Foliar		56,34 aA*	54,80 aA*	52,48 aB
Semente		56,74 aA*	53,67 aB*	50,53 aC
Solo		54,00 bA*	49,53 bB	50,73 aB
Atividade fotossintética líquida ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$)				
Controle	24,09			
Foliar		34,85 aA*	31,86 aA*	31,35 aA*
Semente		31,04 aA*	27,12 bB	30,27 aA*
Solo		29,40 bA*	29,80 abA*	28,71 aA*

“Tabela 22, conclusão”

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Atividade transpiratória ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-2}$)				
Controle	3,11			
Foliar		4,86 aA*	5,19 aA*	4,13 aB*
Semente		3,83 bB*	4,88 aA*	3,82 aB*
Solo		3,52 bB	4,56 aA*	4,30 aAB*
Condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$)				
Controle	0,15			
Foliar		0,21 aAB*	0,20 bB*	0,25 aA*
Semente		0,21 aB*	0,26 aA*	0,19 bB
Solo		0,21 aB*	0,29 aA*	0,21 abB*

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%)

Quanto ao controle, a aplicação do mix de ETRs promoveu efeitos fisiológicos em milho em todas as formas de aplicação. Observa-se que a aplicação do mix (tratamento ETRs) no tratamento de sementes e via foliar aumentou o índice de clorofila e a taxa fotossintética líquida das plantas de milho. Já a atividade transpiratória aumentou apenas com a aplicação do mix via foliar. A condutância estomática foi estimulada, nas três formas de aplicação do mix, uma vez que, apesar de não diferirem entre si, foram superiores ao controle. A aplicação do mix de ETRs no solo, apesar de ter obtido respostas inferiores às demais formas de aplicação, promoveu índice de clorofila, atividade fotossintética líquida e condutância estomática superior ao controle.

A interação entre ETRs e Zn resultou em respostas semelhantes no índice de clorofila de milho entre as formas de aplicação. Na aplicação foliar, os

tratamentos ETRs e ETRs + Zn apresentaram maior índice de clorofila que o tratamento Zn. Na aplicação do mix, no tratamento de sementes e no solo, os tratamentos com adição de Zn (ETRs + Zn e Zn) apresentaram índice de clorofila menor que aquele atingindo com a aplicação do mix de ETRs. Os resultados sugerem que a adição de Zn, em qualquer uma das formas de aplicação, não foi eficiente em promover o aumento do índice de clorofila. Já a aplicação do mix de ETRs promoveu esse aumento. Na atividade fotossintética líquida, nas formas de aplicação foliar e solo, nenhuma interação entre ETRs e Zn foi observada. Entretanto, constatou-se antagonismo entre esses elementos, na aplicação no tratamento de sementes, visto que a aplicação conjunta (ETRs + Zn) obteve menor atividade fotossintética que quando aplicados isoladamente. Na atividade transpiratória verificou-se, na aplicação foliar, que os tratamentos com adição de ETRs (ETRs e ETRs + Zn) foram maiores que o tratamento com Zn. Em contrapartida, na aplicação no solo e no tratamento de sementes, houve aumento da taxa transpiratória apenas com a aplicação conjunta de ETRs + Zn, fato também observado na condutância estomática.

A condutância estomática está relacionada à assimilação de CO₂ pelas folhas e ao fluxo de vapor de água para a atmosfera. Por isso, está intimamente associada às taxas fotossintética e transpiratória da planta (BIANCHI et al., 2007). O aumento na condutância estomática, como observado na aplicação de ETRs, resulta no aumento de trocas gasosas das folhas (vapor de água e CO₂) e pode contribuir para o aumento da taxa fotossintética e a transpiração. Com esse aumento da taxa fotossintética há um maior saldo de fotoassimilados na planta que pode contribuir para o aumento da produção de grãos verificado no presente estudo. Ainda o aumento da taxa transpiratória leva a planta a absorver maior quantidade de água pelas raízes, favorecendo a absorção de nutrientes, especialmente daqueles transportados por fluxo de massa no solo e, assim, também contribui para o aumento da produção de grãos.

O aumento do conteúdo de clorofila nas folhas e da taxa fotossintética tem sido o parâmetro fisiológico mais descrito em plantas submetidas à aplicação de ETRs. Assim como observado no estudo 1 do presente trabalho, a aplicação de ETRs promoveu o aumento do teor de clorofila nas plantas de milho. Os efeitos dos ETRs na atividade fotossintética da planta são bastante semelhantes àqueles realizados pelo Mg^{2+} . Em milho sob deficiência de Mg^{2+} , Zhou et al. (2011) verificaram que a aplicação de Ce^{3+} aumentou a síntese dos pigmentos fotossintéticos, especialmente clorofila b, e sugeriram que esse ETR pode estar intimamente associado à atividade de enzimas fundamentais à síntese da clorofila. Esses autores observaram ainda que o Ce^{3+} acelerou a formação dos complexos proteína-clorofila do fotossistema I, aumentou a intensidade de absorção da energia luminosa pelos cloroplastos por aumento na transferência de energia luminosa da clorofila b e carotenoides até o centro de reação do fotossistema II. Para La^{3+} foi verificado, em folhas de tabaco, que este pode aumentar a atividade da Mg-ATPase e, assim, favorecer a fotofosforilação, além de promover melhor formação dos fotossistemas I e II e estimular a atividade da rubisco (CHEN et al., 2001).

Os resultados da colonização micorrízica e densidade de esporos são mostrados na Tabela 23. A taxa de colonização micorrízica e densidade de esporos de FMAs obtidas, no presente estudo, foram muito baixas e, portanto, não são consideradas efetivas para a promoção do crescimento das plantas de milho. O manejo altamente tecnológico da área onde foi realizado o presente estudo pode ter contribuído para tal resposta, visto que esta é submetida ao alto input de fertilizantes fosfatados e micronutrientes há muitos anos, com uso intenso de fungicidas, especialmente, durante o cultivo de soja na safra, e uso de cultivares melhoradas, fatores que podem contribuir para reduzir a dependência micorrízica das plantas e, também, a comunidade de FMAs no solo (BRESSAN

et al., 2001; CARRENHO; BONONIN; GRACIOLLI, 2008; KAEPPLE et al., 2000).

Tabela 23 Colonização micorrízica (%) e densidade de esporos de FMAs ($n^{\circ} 50 \text{ dm}^{-3}$) de um LATOSSOLO VERMELHO distrófico típico cultivado com milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Tratamentos	Colonização micorrízica	Densidade de esporos
Controle	6,98	30
Foliar	8,24	27
Semente	7,16	41
Solo	6,88	34
ETRs	10,03	32
ETRs + Zn	6,02	29
Zn	6,22	40

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%)

O teor de Zn das raízes, nas folhas e grãos de milho é mostrado na Figura 13 e Tabela 24. A aplicação foliar promoveu os maiores teores de Zn nas folhas, visto que este foi superior às demais formas de aplicação (Figura 13a). Quanto à interação ETRs e Zn, verifica-se, na Figura 13b, que a aplicação conjunta de ETRs + Zn provocou antagonismo entre esses elementos, uma vez que houve redução de 10% do seu teor nas folhas de milho.

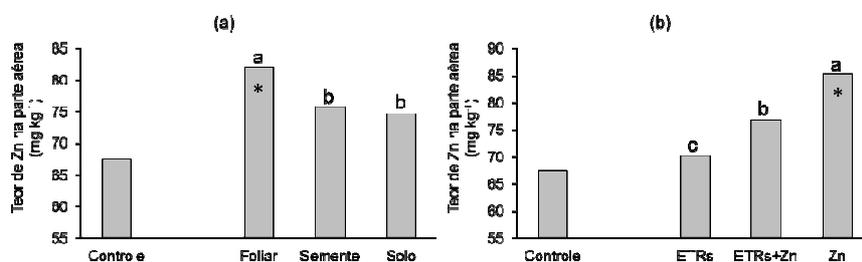


Figura 13 Teor de Zn na folha de milho submetido a três formas de aplicação (a) com e sem combinação com mix de Ce, La, Nd e Y (b)

Legenda: Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%)

O tratamento com mix de ETRs não recebeu adição de Zn, nesse caso, houve apenas a absorção do Zn já disponível no solo e, por esse motivo, já era esperado que apresentasse menores teores de Zn na planta. Conforme apresenta a Tabela 24, a aplicação de ETRs + Zn no solo ou via foliar não interferiu nos teores de Zn nas raízes de milho, contudo, quando aplicados no tratamento de sementes, houve sinergismo entre esses elementos, com aumento de 24% no teor radicular de Zn em relação ao tratamento Zn. Nos grãos, a aplicação de ETRs + Zn aumentou o teor de Zn na aplicação foliar e no solo, porém, no tratamento de sementes houve redução em relação ao tratamento Zn.

Tabela 24 Teor de zinco nas raízes e nos grãos de milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor de zinco nas raízes (mg kg ⁻¹)				
Controle	19,03			
Foliar		14,45 bB*	17,64 cA	20,39 bA
Semente		18,73 aAB	20,71 bA	16,73 cB
Solo		18,54 aB	27,12 aA*	26,97 aA*
Teor de zinco nos grãos (mg kg ⁻¹)				
Controle	12,67			
Foliar		14,22 aB	17,94 aA*	15,11 bB*
Semente		13,07 aB	13,78 bB	17,12 aA*
Solo		14,41 aB	17,21 aA*	15,60 abB*

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%).

A redução do teor de Zn, em virtude da aplicação do mix de ETRs, como verificado nas folhas, também, já foi relatado em outros estudos (CHEN; ZHAO, 2009; WANG et al., 2012b). Os ETRs, especialmente o La³⁺, apresentaram grande similaridade de raio iônico com o Ca²⁺ e, por isso, pode causar efeitos semelhantes a esse nutriente. Assim, o mesmo antagonismo existente entre Ca²⁺ e Zn²⁺ na absorção parece ocorrer entre os ETRs e o Zn (HU et al., 2004). Chen e Zhao (2009) sugeriram que os ETRs, principalmente o La³⁺, podem promover inibição não competitiva com o Zn, bloqueando os canais de absorção desse micronutriente na membrana plasmática.

Em comparação ao padrão certificado AquaticPlant (BR-460), os teores obtidos apresentaram recuperação média de 94% para Ce, 95% para La, 94%

para Nd e 97% para Y. Os teores de Ce, La, Nd e Y nas raízes, folhas e grãos de milho são apresentados nas Tabelas 25 a 28. Assim como observado em outros trabalhos (WANG et al., 2001; WEN et al., 2001), verificou-se, no presente estudo, que a aplicação do mix de ETRs no solo, no tratamento de sementes ou via foliar aumentou os teores de Ce, La, Nd e Y em todas as partes da planta.

A aplicação foliar do mix promoveu maior teor de Ce nas folhas que as demais formas de aplicação. Nas raízes, o maior teor de Ce ocorreu na aplicação do mix no solo. Nos grãos, as três formas de aplicação testadas promoveram acúmulo semelhante de Ce entre si, contudo, todas com teores maiores que o controle (Tabela 25). Esse acúmulo de Ce nos grãos mostra que o Ce aplicado, tanto no solo e semente quanto na folha, estão sendo translocados pela planta e sendo acumulados nos grãos.

Tabela 25 Teores de Ce na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor foliar ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	153,08			
Foliar		591,88 aA*	421,14 bB*	53,49 aC*
Semente		408,32 bA*	355,73 bA*	46,02 aB*
Solo		444,08 bB*	521,95 aA*	90,98 aC
Teor radicular ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	1.543,11			
Foliar		4.512,50 bA*	2.426,08 bB	1.200,37 aC
Semente		4.072,78 bA*	4.355,62 aA*	445,51 aB*
Solo		5.490,87 aA*	4.738,25 aA*	912,43 aB

“Tabela 25, conclusão”

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor nos grãos ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	24,30			
Foliar		45,55 aA*	44,28 bA*	26,29 aB
Semente		44,77 aA*	41,09 bA*	17,93 bB
Solo		47,06 aB*	58,45 aA*	21,64 abC
Fator de translocação				
Controle	0,11			
Foliar		0,14 aB	0,19 aA*	0,07 bC
Semente		0,11 abAB	0,09 bB	0,14 aA
Solo		0,09 bA	0,13 bA	0,12 aA

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%)

A respeito da interação entre ETRs e Zn, verificou-se um antagonismo entre estes na aplicação foliar, pois houve redução de 29% do teor foliar de Ce. No tratamento de sementes, não houve efeito no teor de Ce nas folhas. Já, na aplicação no solo, houve sinergismo constatado pelo aumento no teor foliar de Ce em ETRs +Zn em relação ao tratamento ETRs. Nas raízes, apenas a aplicação foliar promoveu interação entre esses elementos. Observa-se que a aplicação foliar de ETRs + Zn reduziu o teor de Ce nas raízes e também na folha. A aplicação de ETRs + Zn afetou o teor de Ce nos grãos apenas na aplicação do mix no solo, a qual promoveu aumento de 24% no teor de Ce nos grãos (Tabela 25).

Os maiores teores de La na folha foram obtidos pela aplicação do mix no solo e via foliar. Nas raízes, o maior acúmulo de La foi obtido na aplicação

do mix no solo. Já nos grãos, a aplicação foliar promoveu maior teor de La que as demais formas de aplicação (Tabela 26).

A aplicação de Zn, juntamente ao mix de ETRs, prejudicou os teores de La na planta. Nas folhas, o teor de La do tratamento ETRs + Zn foi inferior àquele do tratamento ETRs em todas as formas de aplicação. Nas raízes e nos grãos essa redução ocorreu na aplicação foliar.

O teor de Nd na planta apresentou resultado bastante semelhante ao obtido com Ce quanto às formas de aplicação. O maior teor de Nd foi promovido nas folhas pela aplicação foliar, nas raízes pela aplicação no solo e nos grãos todas as formas de aplicação aumentaram igualmente os teores (Tabela 27).

Tabela 26 Teores de La na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor foliar ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	130,68			
Foliar		312,82 aA*	254,06 bB*	101,67 bC*
Semente		246,89 bA	206,62 cB*	141,27 aC
Solo		323,73 aA*	294,30 aB*	113,99 bC
Teor radicular ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	746,40			
Foliar		1.271,15 bA*	774,08 cB	959,67 aAB
Semente		1.230,44 bA*	1.333,36 bA*	781,97 aB
Solo		1.862,49 aA*	1.723,81 aA*	927,08 aB

“Tabela 26, conclusão”

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor nos grãos ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	13,40			
Foliar		50,88 aA*	38,26 aB*	20,68 aC
Semente		41,38 bA	36,97 aA*	16,59 aB
Solo		40,82 bA*	42,88 aA*	17,14 aB
Fator de translocação				
Controle	0,19			
Foliar		0,29 aB*	0,38 aA*	0,13 bC
Semente		0,24 abA	0,19 bA	0,20 aA
Solo		0,20 bA	0,21 bA	0,14 bA

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%)

Tabela 27 Teores de Nd na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor foliar ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	97,38			
Foliar		249,59 aA*	195,91 bB*	66,53 bC
Semente		213,49 bA*	150,23 cB*	116,99 aC*
Solo		224,82 bA*	237,75 aA*	60,94 bB

“Tabela 27, conclusão”

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor radicular ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	572,61			
Foliar		1.671,01 bA*	1.124,27 cB*	513,99 aC
Semente		1.525,27 bA*	1.734,15 bA*	526,79 aB
Solo		2.359,58 aA*	2.396,39 aA*	570,40 aB
Teor nos grãos ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	14,74			
Foliar		45,85 aA*	45,76 abA*	16,29 aB
Semente		46,32 aA*	43,96 bA*	17,93 aB
Solo		48,61 aA*	50,71 aA*	11,64 aB
Fator de translocação				
Controle	0,20			
Foliar		0,18 aB	0,21 aA	0,16 bB
Semente		0,17 aB	0,11 bC	0,26 aA*
Solo		0,12 bA	0,12 bA	0,13 cA

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%).

A aplicação conjunta do mix de ETRs e Zn reduziu o teor de Nd na folha pela aplicação foliar e no tratamento de sementes. Nas raízes houve redução do teor de Nd quando a aplicação de ETRs + Zn foi feita via foliar. Nos grãos não foi verificada nenhuma interação, positiva ou negativa, da aplicação do mix de ETRs juntamente com o Zn (Tabela 27).

O teor de Y nas raízes e na folha aumentou com aplicação do mix de ETRs, entretanto, foi pouco afetado pelas formas de aplicação. Conforme apresenta a Tabela 28, as três formas de aplicação promoveram acúmulo de Y semelhante entre si tanto nas raízes quanto na parte aérea.

Tabela 28 Teores de Y na folha, raízes e grãos e fator de translocação em milho submetido a diferentes formas de aplicação de mix de Ce, La, Nd e Y com e sem combinação com Zn, em campo

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Teor foliar ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	47,18			
Foliar		80,39 aA*	69,45 bA*	34,88 bB
Semente		71,57 aA*	73,08 bA*	55,05 aB
Solo		78,20 aA*	84,34 aA*	43,02 bB
Teor radicular ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	169,21			
Foliar		363,17 bA*	203,63 bB	73,06 aC*
Semente		327,09 bA*	352,24 aA*	114,19 aB
Solo		485,25 aA*	361,92 aB*	143,73 aC
Teor nos grãos ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				
Controle	16,57			
Foliar		41,49aA*	42,58aA*	16,29 aB
Semente		41,78aA*	41,87aA*	17,93 aB
Solo		41,59aA*	46,59aA*	21,64 aB

“Tabela 28, conclusão”

Tratamento	Controle	ETRs	ETRs + Zn	Zn
Fator de translocação				
Controle	0,38			
Foliar		0,35 aC	0,57 aB*	0,74 aA*
Semente		0,36 aB	0,33 bB	0,64 aA*
Solo		0,26 aB	0,42 bA	0,45 bA

Médias seguidas da mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si (Tukey, 5%). *Médias diferem do controle (Tukey, 5%)

A aplicação conjunta do mix de ETRs e Zn promoveu redução dos teores de Y nas raízes, na aplicação foliar e no solo. Os teores de Y na folha e nos grãos não foram influenciados pela aplicação de ETRs + Zn (Tabela 28).

Com os resultados obtidos verifica-se que o acúmulo de Ce, La, Nd e Y nas plantas de milho decresceu na ordem raízes > folhas > grãos, assim como já relatado em outros trabalhos (WANG et al., 2001; WEN et al., 2001). Entretanto, as razões para esse tipo de variação ainda não foram esclarecidas e necessitam de mais estudos (EMMANUEL et al., 2010b). No presente estudo não foi verificado nenhum sintoma de toxidez nas folhas após a aplicação do mix de ETRs.

Os resultados mostram que o acúmulo dos quatro ETRs na planta variou conforme a forma de aplicação. A aplicação foliar promoveu os maiores teores de Ce, La, Nd e Y nas folhas, enquanto a aplicação no solo promoveu seus maiores teores nas raízes. Quanto ao ETR que mais se acumulou na planta, verifica-se que, nas folhas e nas raízes, o Ce foi o ETR com maior acúmulo, em todas as formas de aplicação. Nos grãos, a aplicação do mix via foliar e no tratamento de sementes promoveu maior acúmulo de La, enquanto a aplicação

no solo resultou em maiores teores de Ce nos grãos. Em todas as partes da planta, o Y foi o elemento com menor acúmulo em todas as formas de aplicação.

O presente estudo constitui o primeiro relato, no Brasil, do acúmulo de ETRs em grãos em experimento de campo, juntamente com o aumento de produção alcançado. O acúmulo nas folhas atingiu 591,88 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de Ce, 323,73 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de La, 249,59 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de Nd e 80,39 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de Y, teores superiores aos encontrados por Wang et al. (2001). Em milho, esses autores obtiveram concentrações de 48, 69 e 23 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de Ce, La e Nd, respectivamente, nas folhas. Por outro lado, os teores de Ce, La e Nd encontrados por esses autores nas raízes e nos grãos foram expressivamente maiores que os teores obtidos no presente estudo, uma vez que nos grãos foram encontrados 80, 190 e 90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de Ce, La e Nd, respectivamente.

Os resultados obtidos, no presente estudo, evidenciam que a aplicação de Ce, La, Nd e Y, em todas as formas de aplicação avaliadas, individualmente ou em mix, pode promover o crescimento de plantas e favorecer o aumento da produção de grãos de milho através do estímulo a colonização micorrízica, incremento no conteúdo de clorofila, na condutância estomática, atividade fotossintética e atividade transpiratória.

5 CONCLUSÕES

Do Estudo 1, realizado em casa de vegetação, conclui-se que:

- a) Na aplicação no solo, Ce, La, Nd e Y aumentaram o crescimento e a colonização micorrízica de milho nas doses $57,39 \text{ mg dm}^{-3}$ de Ce, $34,53 \text{ mg dm}^{-3}$ de La, $29,58 \text{ mg dm}^{-3}$ de Nd e $15,52 \text{ mg dm}^{-3}$ de Y, respectivamente;
- b) No tratamento de sementes, Ce, La, Nd e Y aumentaram o crescimento e a colonização micorrízica de milho nas doses $11,35 \text{ mg L}^{-1}$ de Ce, $9,02 \text{ mg L}^{-1}$ de La, $11,03 \text{ mg L}^{-1}$ de Nd e $6,28 \text{ mg L}^{-1}$ de Y, respectivamente;
- c) As plantas micorrizadas apresentaram teores mais elevados de Ce, La, Nd e Y;
- d) No tratamento de sementes, menores doses foram capazes de aumentar o crescimento do milho e a colonização, comparado à aplicação no solo.

Do Estudo 2, realizado no campo, conclui-se que:

- a) A aplicação foliar de ETRs promoveu a maior produção de grãos;
- b) A aplicação do mix Ce, La, Nd e Y promoveu acúmulo destes na planta e os teores decresceram na ordem de raízes > parte aérea > grãos;
- c) Os maiores teores de ETRs ocorreram, nos grãos, pelo tratamento de sementes; nas folhas, pela aplicação foliar e; nas raízes, pela aplicação no solo;

- d) A aplicação de ETRs + Zn reduziu a produção de grãos assim como taxa fotossintética líquida e a clorofila em aplicação foliar.

REFERÊNCIAS

- ABASHEEVA, N. E. et al. Content of rare-earth elements lanthanum and neodymium in the phytomass of corn and pea. **Chemistry for Sustainable Development**, Novosibirsk, v. 14, n. 1, p. 111-115, Mar./Apr. 2006.
- ANDRES, Y. et al. Factors influencing the biosorption of gadolinium by microorganisms and its mobilisation from sand. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 54, n. 2, p. 262-267, 2000.
- ANDRES, Y.; TEXIER, A. C.; LE CLOIREC, P. Rare earth elements removal by microbial biosorption: a review. **Environmental Technology**, London, v. 24, n. 11, p. 1367-1375, 2003.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, n. 1, p. 373-399, June 2004.
- BIANCHI, C. A. M. et al. Condutância da folha em milho cultivado em plantio direto e convencional em diferentes disponibilidades hídricas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 315-322, mar./abr. 2007.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 399 p.
- BRESSAN, W. et al. Fungos micorrízicos e fósforo, no crescimento, nos teores de nutrientes e na produção do sorgo e soja consorciados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 315-323, fev. 2001.
- BROWN, P. H. et al. Rare earth elements in biological systems. **Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths**, New York, v. 13, n. 1, p. 423-452, Jan. 1990.
- CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Hormesis: the dose-response revolution. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Palo Alto, v. 43, n. 1, p. 175-197, 2003.

CAO, X. et al. Effects of redox potential and pH value on the release of rare earth elements from soil. **Chemosphere**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 655-661, 2001.

CARENHO, R.; BONONIN, V. L. R.; GRACIOLLI, L. A. Efeito dos fungicidas Fosetil-Al e Metalaxil na colonização de mudas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck enxertadas em *C. limon* (L.) Burmf. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 22, n. 2, p. 305-310, abr. 2000.

CHEN, W. J. et al. Effect of lanthanide chloride on photosynthesis and dry matter accumulation in tobacco seedlings. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 79, n. 2, p. 169-176, 2001.

CHEN, X. H.; ZHAO, B. Arbuscular mycorrhizal fungi mediated uptake of lanthanum in Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.). **Chemosphere**, Oxford, v. 68, n. 8, p. 1548-1555, 2007.

CHEN, X. H.; ZHAO, B. Arbuscular mycorrhizal fungi mediated uptake of nutrient elements by Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) grown in lanthanum spiked soil. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 45, n. 6, p. 675-678, 2009.

CUNHA, M. C. L.; NARDI, L. V. S.; FORMOSO, M. L. L. Absorção e fracionamento dos elementos terras raras por vegetais: estudo comparativo em plantas ocorrentes em diferentes contextos geológicos. **Geologia USP**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 53-59, 2010.

DIATLOFF, E.; SMITH, F.; ASHER, C. Rare earth elements and plant growth: I., effects of lanthanum and cerium on root elongation of corn and mungbean. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 18, n. 10, p. 1963-1976, 1995a.

DIATLOFF, E.; SMITH, F.; ASHER, C. Rare earth elements and plant growth: II., responses of corn and mungbean to low concentrations of lanthanum in dilute, continuously flowing nutrient solutions. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 18, n. 10, p. 1977-1989, 1995b.

DIATLOFF, E.; SMITH, F.; ASHER, C. Rare earth elements and plant growth: III., responses of corn and mungbean to low concentrations of cerium in dilute, continuously flowing nutrient solutions. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 18, n. 10, p. 1991-2003, 1995c.

DICK, R. P.; BREAKWELL, D. P.; TURCO, R. F. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In:

DORAN, J.; JONES, A. (Ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. p. 247-271.

DINALI, G. **Elementos terras raras em materias derivados da indústria de fosfatos no Brasil**. 2014. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

EL-RAMADY, H. R. H. **A contribution on the bio-actions of rare earth elements in the soil/plant environment**. 2011. 278 f. Thesis (Ph.D. in Science) - Fakultät für Lebenswissenschaften der Technischen Universität Carolo, Wilhelmina Brunsvique, 2011.

EMMANUEL, E. S. C. et al. Effect of some rare earth elements on dry matter partitioning, nodule formation and chlorophyll content in *Arachis hypogaea* L. plants. **Australian Journal of Crop Science**, Melbourne, v. 4, n. 9, p. 670-675, 2010a.

EMMANUEL, E. S. C. et al. Efficacy of rare earth elements on the physiological and biochemical characteristics of *Zea mays* L. **Australian Journal of Crop Science**, Melbourne, v. 4, n. 4, p. 289-294, 2010b.

ESPINDOLA, M. C. G.; MENEZES, N. L. de; BARBIERI, A. P. P. Efeito do cério na qualidade fisiológica de sementes de milho e no desempenho agrônomo das plantas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 1501-1507, 2013.

FENG, X.; ZHU, G.; LI, Y. Toxicological effects of rare earth yttrium on wheat seedlings (*Triticum aestivum*). **Journal of Rare Earths**, Washington, v. 31, n. 12, p. 1214-1220, 2013.

GERDEMANN, J.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.

GIANINAZZI, S. et al. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 20, n. 8, p. 519-530, 2010.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

GONG, X. et al. Cerium relieves the inhibition of photosynthesis of maize caused by manganese deficiency. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 141, n. 1/3, p. 305-316, 2011a.

GONG, X. et al. Effects of manganese deficiency and added cerium on nitrogen metabolism of maize. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 144, n. 1/3, p. 1240-1250, 2011b.

GONZALEZ-CHAVEZ, C. et al. Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*. **New Phytologist**, Cambridge, v. 155, n. 1, p. 163-171, 2002a.

GONZALEZ-CHAVEZ, C. et al. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus spp.* (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. **Plant and Soil**, The Hague, v. 240, n. 2, p. 287-297, 2002b.

GONZALEZ-CHAVEZ, M. et al. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, Barking, v. 130, n. 3, p. 317-323, 2004.

GU, Z. et al. Determination of stability constants for rare earth elements and fulvic acids extracted from different soils. **Talanta**, London, v. 53, n. 6, p. 1163-1170, 2001.

GUO, W. et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) grown in rare earth elements of mine tailings. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 72, n. 1, p. 85-92, Oct. 2013a.

GUO, W. et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and rare earth elements uptake of soybean grown in rare earth mine tailings. **Environmental Science**, New York, v. 34, n. 5, p. 1915-1921, 2013b.

HEIJDEN, M. G. van der et al. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. **Nature**, London, v. 396, n. 6706, p. 69-72, 1998.

HONG, F. et al. The effect of cerium (III) on the chlorophyll formation in spinach. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 89, n. 3, p. 263-276, 2002.

HONG, F.; WEI, Z.; ZHAO, G. Mechanism of lanthanum effect on chlorophyll of spinach. **Science in China - Series C**, Beijing, v. 45, n. 2, p. 166-176, 2002.

HU, X. et al. Bioaccumulation of lanthanum and cerium and their effects on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Chemosphere**, Oxford, v. 48, n. 6, p. 621-629, 2002.

HU, Z. et al. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 27, n. 1, p. 183-220, 2004.

HU, Z. et al. Rare earth elements in soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 37, n. 9/10, p. 1381-1420, 2006.

HUANG, G.; WANG, L.; ZHOU, Q. Lanthanum (III) regulates the nitrogen assimilation in soybean seedlings under ultraviolet-B radiation. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 151, n. 1, p. 105-112, 2013.

ISHIKAWA, S.; WAGATSUMA, T.; IKARASHI, T. Comparative toxicity of Al^{3+} , Yb^{3+} , and La^{3+} to root-tip cells differing in tolerance to high Al^{3+} in terms of ionic potentials of dehydrated trivalent cations. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 42, n. 3, p. 613-625, 1996.

JENKINS, W. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4th ed. Boca Raton: CRC, 2011. 534 p.

KAEPPLER, S. M. et al. Variation among maize inbred lines and detection of quantitative trait loci for growth at low phosphorus and responsiveness to arbuscular mycorrhizal fungi. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 358-364, 2000.

KANG, L.; SHEN, Z.; JIN, C. Neodymium cations Nd^{3+} were transported to the interior of *Euglena gracilis*²⁷⁷. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 45, n. 7, p. 585-592, 2000.

KASTORI, R. et al. Rare earth elements: yttrium and higher plants. **Zbornik Matice Srpske za Prirodne Nauke**, Novi Sad, n. 118, p. 87-98, 2010.

- KOELE, N. et al. Ecological significance of mineral weathering in ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal ecosystems from a field-based comparison. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 69, n. 1, p. 63-70, 2014.
- KONG, X. et al. Designer crops: optimal root system architecture for nutrient acquisition. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 32, n. 12, p. 597-598, 2014.
- KOSKE, R.; GEMMA, J. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, Cambridge, v. 92, n. 4, p. 486-488, 1989.
- LI, D. et al. Study on the kinetics of cerium (III) adsorption–desorption on different soils of China. **Chemosphere**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 663-669, 2001.
- LI, F. et al. Evaluation of plant availability of rare earth elements in soils by chemical fractionation and multiple regression analysis. **Environmental Pollution**, Barking, v. 102, n. 2, p. 269-277, 1998.
- LIANG, C.; ZHANG, G.; ZHOU, Q. Effect of cerium on photosynthetic pigments and photochemical reaction activity in soybean seedling under ultraviolet-B radiation stress. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 142, n. 3, p. 796-806, 2011.
- LIANG, T. et al. Environmental biogeochemical behaviors of rare earth elements in soil-plant systems. **Environmental Geochemistry and Health**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 301-311, 2005.
- LIMA, E.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Shiraz, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.
- LIU, M.; HASENSTEIN, K. H. La³⁺ uptake and its effect on the cytoskeleton in root protoplasts of *Zea mays* L. **Planta**, Berlin, v. 220, n. 5, p. 658-666, 2005.
- LUO, J.; ZHANG, J.; WANG, Y. Changes in endogenous hormone levels and redox status during enhanced adventitious rooting by rare earth element neodymium of *Dendrobium densiflorum* shoot cuttings. **Journal of Rare Earths**, Washington, v. 26, n. 6, p. 869-874, 2008.

MAKSIMOVIC, I. et al. Effect of yttrium on photosynthesis and water relations in young maize plants. **Journal of Rare Earths**, Washington, v. 32, n. 4, p. 372-378, 2014.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 252 p.

MEHARG, A. A. The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. **Mycological Research**, Cambridge, v. 107, n. 11, p. 1253-1265, 2003.

MEI, Q. et al. Effect of neodymium ion on mitochondrial metabolism of rice (*Oryza sativa*). **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 43, n. 4, p. 1949-1952, 2011.

MEIER, S. et al. Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, Boca Raton, v. 42, n. 7, p. 741-775, 2012.

MOREIRA, C. **Elementos terras raras em solos agrícolas com aplicações de fertilizante fosfatado e fosfogesso**. 2014. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

MOREIRA, F. M. S. et al. Symbioses of plants with rhizobia and mycorrhizal fungi in heavy metal-contaminated tropical soils. In: SHERAMETI, I.; VARMA, A. (Ed.). **Heavy metal contamination of soils: soil biology**. New York: Springer International, 2015. p. 215-243.

OLIVEIRA, K. et al. Transfer factor of rare earth elements from phosphogypsum amended Brazilian tropical soils to lettuce, corn and soybean. **The Journal of Solid Waste Technology and Management**, Philadelphia, v. 38, n. 3, p. 202-210, 2012.

OTERO, N. et al. Fertiliser characterisation: major, trace and rare earth elements. **Applied Geochemistry**, Oxford, v. 20, n. 8, p. 1473-1488, 2005.

OZAKI, T. et al. Multitracer study on the uptake mechanism of yttrium and rare earth elements by autumn fern. **Radiochimica Acta**, Wiesbaden, v. 90, n. 5, p. 303-307, 2002.

PANG, X.; LI, D.; PENG, A. Application of rare-earth elements in the agriculture of China and its environmental behavior in soil. **Environmental Science and Pollution Research**, Oxford, v. 9, n. 2, p. 143-148, 2002.

PARNISKE, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 6, n. 10, p. 763-775, 2008.

PIASECKI, W.; SVERJENSKY, D. A. Speciation of adsorbed yttrium and rare earth elements on oxide surfaces. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, London, v. 72, n. 16, p. 3964-3979, 2008.

REDISKE, J.; SELDERS, A. The uptake and translocation of yttrium by higher plants. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 41, n. 3, p. 238-242, 1954.

REDLING, K. **Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry**. 2006. 360 p. Thesis (Ph.D. in Physiologische Chemie) - Universität München, München, 2006.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359 p.

RILLIG, M. C.; STEINBERG, P. D. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification? **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 34, n. 9, p. 1371-1374, 2002.

ROGERS, E. D.; BENFEY, P. N. Regulation of plant root system architecture: implications for crop advancement. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 32, n. 1, p. 93-98, Nov. 2015.

SCHÜBLER, A.; WALKER, C. The Glomeromycota: a species list with new families and new genera. **Mycological Research**, Cambridge, v. 105, n. 1, p. 1413-1421, Dec. 2010.

SHEN, Z.; KANG, L.; JIN, C. Nd^{3+} uptakes in cell of *Euglena gracilis*²⁷⁷. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 44, n. 15, p. 1590-1596, 1999.

SHENG, M. et al. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 18, n. 6/7, p. 287-296, 2008.

SHYAM, R.; AERY, N. Effect of cerium on growth, dry matter production, biochemical constituents and enzymatic activities of cowpea plants [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 12, n. 1, p. 1-14, 2012.

SIQUEIRA, J.; KLAUBERG-FILHO, O. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. In: NOVAIS, R.; ALVAREZ, V.; SCHAEFER, C. (Ed.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. v. 1, p. 235-264.

SOARES, C. et al. Micorriza arbuscular e nutrição fosfática na toxidez de zinco para a trema [*Trema micrantha* (L.) Blum.]. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 30, n. 4, p. 665-675, 2006.

SOUSA, D. M. G.; LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2. ed. Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2004. 416 p.

SUZUKI, H. et al. Uptake of 15 trace elements in arbuscular mycorrhizal marigold: measured by the multitracer technique. **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 46, n. 2, p. 283-289, 2000.

TANG, X. et al. Ecological effects of low dosage mixed rare earth elements accumulation on major soil microbial groups in a yellow cinnamon soil. **The Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 15, n. 11, p. 2137-2141, 2004.

THOMAS, P. J. et al. Rare earth elements (REEs): effects on germination and growth of selected crop and native plant species. **Chemosphere**, Oxford, v. 96, n. 1, p. 57-66, Feb. 2014.

TURRA, C.; FERNANDES, E.; BACCHI, M. Evaluation on rare earth elements of Brazilian agricultural supplies. **Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, London, v. 3, n. 4, p. 86-92, 2011.

TYLER, G. Rare earth elements in soil and plant systems: a review. **Plant and Soil**, The Hague, v. 267, n. 1, p. 191-206, 2004.

TYLER, G.; OLSSON, T. Concentrations of 60 elements in the soil solution as related to the soil acidity. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 151-165, 2001.

TYLER, G.; OLSSON, T. Rare earth elements in forest-floor herbs as related to soil conditions and mineral nutrition. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 106, n. 2, p. 177-191, 2005.

VOLOKH, A. et al. Phosphorus fertilizer production as a source of rare-earth elements pollution of the environment. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 95, n. 1, p. 141-148, June 1990.

WANG, C. et al. Lanthanum element induced imbalance of mineral nutrients, HSP 70 production and DNA-protein crosslink, leading to hormetic response of cell cycle progression in root tips of *Vicia faba* L. seedlings. **Dose-Response**, Amherst, v. 10, n. 1, p. 96-107, 2012a.

WANG, C. et al. Mineral nutrient imbalance, DNA lesion and DNA-protein crosslink involved in growth retardation of *Vicia faba* L. seedlings exposed to lanthanum ions. **Journal of Environmental Sciences**, Guilin, v. 24, n. 2, p. 214-220, 2012b.

WANG, J.; GUO, C.; CHENG, Y. Mechanism of cerium ion clearing superoxide radical. **Journal of Chinese Rare Earth Society**, Beijing, v. 15, n. 2, p. 151-154, 1997.

WANG, L. F.; JI, H. B.; TIAN, W. M. Photosystem 2 photochemistry and pigment composition of *Dicranopteris dichotoma* Bernh under different irradiances. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 62, p. 13453-13460, 2011.

WANG, Z. et al. Accumulation of rare earth elements in corn after agricultural application. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 30, n. 1, p. 37-45, 2001.

WANG, Z.; SHAN, X.; ZHANG, S. Comparison of speciation and bioavailability of rare earth elements between wet rhizosphere soil and air-dried bulk soil. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 441, n. 1, p. 147-156, 2001.

WEI, Z. et al. Structural differences between light and heavy rare earth element binding chlorophylls in naturally grown fern *Dicranopteris linearis*. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 106, n. 3, p. 279-297, 2005.

WEN, B. et al. The influence of rare earth element fertilizer application on the distribution and bioaccumulation of rare earth elements in plants under field

conditions. **Chemical Speciation and Bioavailability**, Surrey, v. 13, n. 2, p. 39-48, 2001.

WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Science**, Baltimore, v. 161, n. 9, p. 575-586, 1996.

WU, Z. et al. Adsorption isotherms of lanthanum to soil constituents and effects of pH, EDTA and fulvic acid on adsorption of lanthanum onto goethite and humic acid. **Chemical Speciation and Bioavailability**, Surrey, v. 13, n. 3, p. 75-81, 2001.

XU, X. et al. Accumulation of rare earth elements in maize plants (*Zea mays* L.) after application of mixtures of rare earth elements and lanthanum. **Plant and Soil**, The Hague, v. 252, n. 2, p. 267-277, 2003.

XU, X. et al. Distributions of rare earths and heavy metals in field-grown maize after application of rare earth-containing fertilizer. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 293, n. 1, p. 97-105, 2002.

XU, X.; WANG, Z. Phosphorus uptake and translocation in field-grown maize after application of rare earth-containing fertilizer. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 30, n. 4, p. 557-568, 2007.

YOON, J. et al. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 368, n. 2, p. 456-464, 2006.

ZAREI, M. et al. Arbuscular mycorrhizal abundance in contaminated soils around a zinc and lead deposit. **European Journal of Soil Biology**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 381-391, 2008.

ZENG, F. et al. The effects of La (III) on the peroxidation of membrane lipids in wheat seedling leaves under osmotic stress. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 69, n. 2, p. 141-150, 1999.

ZENG, Q. et al. Phytotoxicity of lanthanum in rice in haplic acrisols and cambisols. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 64, n. 2, p. 226-233, 2006.

ZHANG, H.; RUI, Y. K. Determination of trace elements, heavy metals and rare earth elements in corn seeds from Beijing by ICP-MS simultaneously. **E-Journal of Chemistry**, Beijing, v. 8, n. 2, p. 782-786, 2011.

ZHANG, S.; SHAN, X. Speciation of rare earth elements in soil and accumulation by wheat with rare earth fertilizer application. **Environmental Pollution**, Barking, v. 112, n. 3, p. 395-405, 2001.

ZHAO, L. et al. Stress response and tolerance of *Zea mays* to CeO₂ nanoparticles: cross talk among H₂O₂, heat shock protein, and lipid peroxidation. **ACS Nano**, Washington, v. 6, n. 11, p. 9615-9622, 2012.

ZHOU, M. et al. Improvement of cerium of photosynthesis functions of maize under magnesium deficiency. **Biological Trace Element Research**, Clifton, v. 142, n. 3, p. 760-772, 2011.

ZUCCARINI, P. Mycorrhizal infection ameliorates chlorophyll content and nutrient uptake of lettuce exposed to saline irrigation. **Plant Soil and Environment**, Praha, v. 53, n. 7, p. 283-289, 2007.