



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
UENP - CAMPUS LUIZ MENEGHEL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

DANIEL TORRES FONTES NETO

**Extrato de *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis
sob diferentes doses na cultura da soja**

BANDEIRANTES – PR

AGOSTO/2017

DANIEL TORRES FONTES NETO

**Extrato de *Ascophyllum nodosum* (L.) Le sob
diferentes doses na cultura da soja**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre ao Programa de Mestrado em Agronomia, da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel.

Orientador Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto

**BANDEIRANTES – PR
AGOSTO/2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UENP**

F683E Fontes Neto, Daniel Torres
 Extrato de *Ascophyllum nodosum* (L) Le Jolis sob
diferentes doses na cultura da soja / Daniel Torres
Fontes Neto; orientador Leopoldo Sussumu Matsumoto.
- Bandeirantes, 2017
50 p.

 Dissertação (Mestrado em Agronomia) -
Universidade Estadual do Norte do Paraná, Centro de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em
Agronomia - Bandeirantes, 2017.

 1. Algas Marinhas. 2. Bioestimulantes 3.
Déficit Hídrico. 4. Bioindicadores. 5. Soja. I.
Matsumoto, Leopoldo Sussumu, orientador. II. co-
orient. III. Título

CA110.1.4.1.1.5

DANIEL TORRES FONTES NETO

FICHA DE APROVAÇÃO

**Extrato de *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis
sob diferentes doses na cultura da soja**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre ao Programa de Mestrado em Agronomia, da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel. conferido pela Banca Examinadora composta por:

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto – UENP/CLM

Prof. Dr. Silvestre Bellettini – UENP/CLM

Dr^a. Lilian Sandanha – Acadian Seaplants Ltd.

Bandeirantes, 22 de Agosto de 2017.

DEDICATÓRIA

“ O Senhor é quem vai adiante de ti,
Ele será contigo, não te deixará, nem te
desampará; não temas, nem te
atemorizes. ” (Deuteronômio 31.8)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por minha saúde e por todas as bênçãos que Ele tem proporcionado a mim e à minha família.

Aos meus pais Alfredo e Vera Fontes, pela educação e apoio recebido. A Jessyka Cardoso, pelo companheirismo, apoio, incentivo e paciência.

À minha família e amigos, pelos incentivos, orações e momentos compartilhados. A todos os colegas dos laboratórios de Solos e de Microbiologia do Solo da UENP-CLM, em especial ao Gilberto, Esmeralda, Rodrigo, Dayane, Fabiano, Aline, Tomaiz, Neto e Prof. Dr. Luis Eduardo Lescano, pela amizade e auxílio nas análises.

Ao Prof. Dr. Silvestre Bellettini, pelo suporte e experiências compartilhadas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leopoldo Matsumoto, pela disposição, confiança, conselhos, ensinamentos, paciência e determinação à pesquisa científica. Aos professores, colegas de turma e secretárias do Programa de Mestrado em Agronomia da UENP-CLM, pelo convívio, aprendizado e apoio.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

FONTES NETO, D.T. **Extrato de *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis sob diferentes doses na cultura da soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes – PR. 51p. 2017.

RESUMO

Os bioativadores são substâncias complexas que promovem o equilíbrio geral das plantas, favorecendo a expressão do seu potencial genético. Também podem aumentar a resistência a estresses bióticos e abióticos, aumentar a fertilidade do solo, promover o crescimento vegetal e aumentar a produtividade. As atividades antrópicas em agrossistemas influenciam na qualidade do solo, assim, a comunidade microbiana é altamente sensível a estas alterações, sendo ótimo bioindicadores da qualidade do solo. Substâncias bioativas de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*) têm-se mostrado muito benéficos no rendimento e qualidade do solo e das culturas. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do extrato *A. nodosum* na cultura da soja sob diferentes doses. Foram conduzidos ensaios a campo nas safras, 2014/15 (1) e 2015/16 (2), e em casa de vegetação em 2016/2017. O delineamento utilizado para os ensaios a campos foram bloco ao acaso constituindo de 4 e 5 tratamentos com 5 e 4 repetições respectivamente. No ensaio 1, os tratamentos consistiam de sem (T1) e com aplicação do extrato de *A. nodosum* 29%, sendo 2,0 mL Kg⁻¹ de semente e em cobertura doses crescentes do extrato de alga 0,5 (T2); 1,0 (T3) e 2,0 L ha⁻¹ (T4). No ensaio 2, os tratamentos consistiam de controle sem aplicação do extrato (T1); tratamento de semente com 2,0 mL Kg⁻¹ de semente e em cobertura dose de 1,0 L ha⁻¹ do extrato de algas a 29% (T2); sementes tratadas com 2,0 mL do extrato de *A. nodosum* 29% Kg⁻¹ de semente e em cobertura doses crescentes do extrato de *A. nodosum* 9% 1,0 (T3); 2,0 (T4) e 3,0 L ha⁻¹ (T5). O terceiro ensaio foi conduzido em casa de vegetação em vasos inteiramente casualizados constituído por 2 tratamentos, sem a aplicação do extrato de alga (T1) e aplicação na semente do extrato de *A. nodosum* 29%, de 2,0 ml Kg⁻¹ de semente e em cobertura 1,0 L ha⁻¹ do extrato de *A. nodosum* 9% (T2). As aplicações em cobertura foram feitas nas fases R1 e R5, em que a dose por hectare foi dividida entre as duas aplicações. Foram avaliadas, Carbono Orgânico Total (COT), Carbono da Biomassa Microbiana (CBMS), Respiração Basal (RBS), Quocientes Metabólico (qCO₂) e Microbiano (qMIC) e química de

rotina, além das avaliações agronômicas das plantas. Os resultados foram submetidos à análise de variância, com médias comparadas por teste de Tukey ($p < 0,05$). No ensaio 2014/2015, o T3 apresentou melhores resultados em todas as variáveis avaliadas. No ensaio 2015/2016, apesar os resultados não diferirem estatisticamente em função dos fatores abióticos, o T3 apresentou uma tendência de maior produtividade e melhores parâmetros microbiológicos. Já no ensaio na estufa, o T2 apresentou aumento significativo no diâmetro do caule e aumento da área foliar demonstrando uma melhor resposta a estresse hídrico. Os tratamentos que receberam a inoculação nas sementes e as aplicações foliares dos extratos líquidos comerciais da alga *Ascophyllum nodosum* (Acadian® e/ou Toggle®) mostraram-se eficientes na cultura da soja, incrementando a produtividade em diferentes condições hídricas, sem causar impacto negativo a comunidade microbiana.

Palavras-chave: déficit hídrico, algas marinhas, bioativadores

FONTES NETO, D.T. **Extract of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis under different doses in soybean.** Dissertation (Master's degree in Agronomy) – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes – PR. 51p. 2017.

ABSTRACT

Bioactivators are complex substances that promote balance in plants, favoring the expression of their genetic potential. They can also increase resistance to biotic and abiotic stresses, increase soil fertility, promote plant growth and increase productivity. Anthropogenic activities in agrosystems influence soil quality, thus, the microbial community is highly sensitive to these changes, being excellent bioindicators of soil quality. Bioactive substances of marine algae (*Ascophyllum nodosum*) have been shown to be very beneficial in yield and quality of soil and crops. The aim of this study was to evaluate the effect of *A. nodosum* extract on soybean under different doses. Field trials were conducted on the crops 2014/15 (1) and 2015/16 (2), and in greenhouse in 2016/17. The experimental design for the field trials was randomized blocks consisting of 4 and 5 treatments with 5 and 4 replicates respectively. In trial 1, treatments consisted of an untreated check (without application -T1) and with applications of the extract of *A. nodosum* 29%, with 2.0 mL Kg⁻¹ of seed and in coverage sprayings at increasing rates of seaweed extract 0.5 (T2); 1.0 (T3) and 2.0 L ha⁻¹ (T4). In trial 2, the treatments consisted of an untreated check (T1); Seed treatment with 2.0 mL Kg⁻¹ of seed and coverage sprayings at rate 1.0 L ha⁻¹ of seaweed extract 29% (T2); Seeds treated with 2.0 mL of the extract of *A. nodosum* 29% Kg⁻¹ of seed and coverage spraying at increasing rates of the extract of *A. nodosum* 9% 1,0 (T3); 2.0 (T4) and 3.0 L ha⁻¹ (T5). The third experiment was conducted in a greenhouse in completely randomized flower pots composed of 2 treatments, untreated check (T1) and seed application of the extract of *A. nodosum* 29% of 2.0 ml Kg⁻¹ of seed and in coverage spraying at rate 1.0 L ha⁻¹ of the extract of *A. nodosum* 9% (T2). Coverage applications were performed at phenological stadiums, R1 and R5, where the doses per hectare were divided between the two applications. Total Organic Carbon (TOC), Microbial Biomass Carbon (CBMS), Basal Breath (RBS), Metabolic Quotients (*q*CO₂) and Microbial (*q*MIC) and routine chemical analisys were evaluated, as well as agronomic evaluations of plants. The results were submitted to analysis

of variance, with averages compared by Tukey test ($p < 0.05$). In the 2014/2015 trial, T3 showed better results in all evaluated variables. In the 2015/2016 trial, although the results did not differ statistically in function of abiotic factors, T3 showed a tendency of higher productivity and better microbiological parameters. In the greenhouse trial, T2 presented a significant increase in the diameter and increase of the leaf area demonstrating a better response to water stress. The treatments that received inoculation in the seed and the foliar applications of the commercial liquid of seaweed extracts of *Ascophyllum nodosum* (Acadian® and / or Toggle®) were efficient in the soybean crop, increasing the productivity in different conditions without causing a negative impact on the microbial community.

Key words: water deficit, seaweed, biostimulants

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Soja (<i>Glycine max</i>)	17
2.2	Comunidade microbiana do solo	19
2.3	Bioestimulante: Extrato de alga (<i>Ascophyllum nodosum</i>).....	20
2.4	Fatores abióticos	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Instalação dos experimentos e delineamento experimental	23
3.2	Coletas e preparo de amostras de solo para análises químicas do solo e para análises microbiológicas	28
3.3	Análise química do solo.....	28
3.4	Determinação de carbono da biomassa microbiana do solo	29
3.5	Determinação da respiração basal e quociente metabólico do solo	31
3.6	Determinação do carbono orgânico total (COT) e qMIC.....	32
3.7	Avaliações na soja.....	32
3.8	Análise estatística.....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
4.1	Ensaio a campo safra 2014/2015	33
4.2	Ensaio a campo safra 2015/2016	37
4.3	Ensaio em Casa de Vegetação condução em vasos.....	39
5	CONCLUSÃO.....	44
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura para fotografar as plantas submetidas ao estresse hídrico	25
Figura 2.	Temperatura média no período da cultura 2014/2015.....	33
Figura 3.	Índice pluviométrico no período da cultura 2014/2015.....	34
Figura 4.	Temperatura média no período da cultura 2015/2016.....	36
Figura 5.	Índice pluviométrico no período da cultura 2015/2016.....	37
Figura 6.	Avaliação da área foliar da soja com o programa SFP	38
Figura 7.	Plantas no início do estresse hídrico	40
Figura 8.	Plantas reidratadas após o estresse hídrico	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Análise química do solo na camada de 0 – 20 cm, antes da semeadura da soja.....	21
Tabela 2.	Especificações físicas do extrato líquido comercial Acadian®....	21
Tabela 3.	Tabela 3. Especificações químicas do extrato líquido comercial Acadian®	21
Tabela 4.	Especificações físicas do extrato líquido comercial Toggle®	21
Tabela 5.	Tabela 5. Especificações químicas do extrato líquido comercial Toggle®	22
Tabela 6.	Descrição dos tratamentos ensaio safra 2014/2015	22
Tabela 7.	Descrição dos tratamentos ensaio safra 2015/2016	23
Tabela 8.	Descrição dos tratamentos ensaio em casa de vegetação	23
Tabela 9.	Análise química do solo na camada de 0 – 0,2 m 45 dias após a aplicação do extrato de <i>A. nodosum</i>	30
Tabela 10.	Análise química do solo na camada de 0 – 0,2 m na pós colheita 2014/2015.....	31
Tabela 11.	Variáveis agronômicas avaliadas (Massa fresca e seca da planta, número de inflorescência, porcentagem de abortamento e produtividade em hectare) pelo efeito da aplicação do extrato de <i>A. nodosum</i> na cultura da soja	31
Tabela 12.	Atributos microbiológicos avaliados 45 dias após a aplicação do extrato de <i>A. nodosum</i>	32
Tabela 13.	Atributos microbiológicos avaliados na pós colheita	33
Tabela 14.	Análise química do solo na camada de 0 – 20 cm pós-colheita da soja 2015/2016	34
Tabela 15.	Atributos microbiológicos avaliados 45 dias após a aplicação do extrato de <i>A. nodosum</i>	35
Tabela 16.	Variáveis agronômicas avaliadas (Número de inflorescência, porcentagem de abortamento e produtividade) pelo efeito da aplicação do extrato de <i>A. nodosum</i> na cultura da soja	35
Tabela 17.	Variáveis agronômicas avaliadas (massa fresca e seco da raiz, massa fresca e seca da parte aérea, diâmetro do caule e número de vagens por planta) pelo efeito da aplicação do extrato de <i>A. nodosum</i> na cultura da soja	38
Tabela 18.	Variáveis agronômicas avaliadas (número de inflorescência, porcentagem de abortamento, produtividade por planta e P.C.S) pelo efeito da aplicação do extrato de <i>A. nodosum</i> na cultura da soja	38

LISTA DE ABREVIATURAS

Al^{3+} - alumínio trocável

A. nosodum – *Ascophyllum nodosum*

Ca^{2+} - cálcio trocável

cm – centímetros

C - Carbono

CBM - carbono da biomassa microbiana

CBMS - carbono da biomassa microbiana do solo

CC - capacidade de campo

CLM - *Campus* Luiz Meneghel

cmol_c - centimol de carga

COT - carbono orgânico total

CTC - capacidade de troca catiônica

FEI - fumigação-extração indireta

H+AL - acidez potencial

ha - hectare

K^{+} - potássio trocável

K_c - coeficiente de extração

Kg - quilograma

M - mol

m - metro

m% - saturação por alumínio

Mg - megagrama

Mg^{2+} - magnésio trocável

mL - mililitro

mm - milímetro

MO - matéria orgânica

MFPA - massa fresca da parte aérea

MFR - massa fresca da raiz

MSPA - massa seca da parte aérea

MSR – massa seca da raiz

P – fósforo

PCS - peso de cem sementes

P_2O_5 - pentóxido de fósforo

pH - potencial hidrogeniônico

PMP - ponto de murcha permanente

$q\text{CO}_2$ - quociente metabólico

$q\text{MIC}$ - quociente microbiano

R1 – início do florescimento

R5 – início do enchimento de grão

RBS - respiração basal do solo

rpm - rotações por minuto

SB - soma de bases

UENP - Universidade Estadual do Norte do Paraná

V% - saturação por bases

Zn - zinco

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, dentre as oleaginosas cultivadas, a soja (*Glycine max*) é a mais importante e possui grande participação na economia mundial. A produção de grãos dessa espécie é de suma importância, pelo fato de ser utilizada em várias áreas, como para consumo humano, pela indústria para a fabricação de óleo para alimentos e ainda para o consumo animal, em que é aproveitado o farelo e usado para misturas na fabricação de rações. Por esse motivo, observa-se importante investimento em pesquisas para desenvolvimento de produtos e técnicas de manejo sustentáveis, a fim de obter melhores rendimentos para o produtor sem prejudicar o meio ambiente.

Neste contexto, os bioativadores representam para a agricultura possibilidade de aprimorar o sistema de cultivo. Algas marinhas possuem compostos bioativos, que melhoram o rendimento e qualidade geral das plantas, seja por extratos de alga líquido ou em pó.

O solo é um dos principais fatores para se obter boa produtividade, e sua qualidade relaciona-se ao equilíbrio entre as propriedades físicas, químicas e biológicas. Esse conceito foi utilizado na Revolução Verde relacionando diretamente ao conceito de fertilidade e alta qualidade, solo rico quimicamente, devido ao fato que nele seria possível estabelecer a produção agrícola.

Atualmente, além das propriedades físicas e químicas, a microbiologia do solo tem papel importante na determinação da qualidade do solo, ela possui parâmetros que auxiliam nesta análise, como a atividade e diversidade da população microbiana que em conjunto influenciam diretamente na saúde do solo.

Portanto, a procura por produtos sustentáveis e que venham a agregar valor é crescente. Produtos biológicos em especial à base de algas se enquadram nesse perfil de agricultura sustentável, pelo fato de serem benéficos às plantas, à comunidade microbiana, serem naturais, e quando bem manejados, de maneira não extrativista, se tornam sustentáveis.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo de avaliar o efeito do extrato *Ascophyllum nodosum* na cultura da soja sob diferentes doses.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Soja (*Glycine max*)

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa originária da China, cultivada a mais de cinco mil anos, a qual sofreu modificações nas características originais ao decorrer do tempo (MORENO, 2016).

A expansão da cultura da soja teve início a partir do século XV, mas somente no começo do século XX, iniciou-se o cultivo comercial e teve atenção das indústrias mundiais. O grão de soja se tornou um item de comércio exterior importante com o fim da Primeira Guerra Mundial, e no ano de 1921 ocorreu a consolidação da cadeia produtiva do soja em esfera mundial, com a fundação a American Soybean Association (ASA) (APROSOJA, 2015).

A oleaginosa mais importante cultivada mundialmente é o soja, a qual possui enorme expressão econômica (CONAB, 2012). O farelo de soja é utilizado nas rações animais como principal fonte proteica, e no Brasil e no mundo, o soja representa uma das commodities com maiores promessas de revolucionar o mercado dos alimentos funcionais (EMBRAPA, 2003).

Em meados de 1960 a principal responsável pela profissionalização e especialização da agricultura foi a cultura da soja, responsável pela introdução do conceito de agronegócio no Brasil, fato explicado pela quantidade de investimentos, empresas e pessoas envolvidas em sua produção e processamento e da atividade por parte de todos os elementos envolvidos no complexo agroindustrial da cadeia (FEDERIZZI, 2006).

O Brasil é um dos principais exportadores de grãos, sendo o segundo maior produtor, atrás apenas dos Estados Unidos da América no cenário mundial. A soja pode ser cultivada em quase todas as regiões do mundo, o que eleva o seu grau de importância para a humanidade (BIANCO et al, 2012).

A procura mundial por soja e seus subprodutos estão em ascensão. Devido ao aumento do consumo na alimentação humana e da alimentação animal, pertinente ao aumento da produção animal no mundo. A divulgação na mídia dos benefícios da soja à saúde tem alterado o conceito dos consumidores em relação ao grão, como por exemplo, a redução do risco de doenças, como

câncer, osteoporose, diabetes, doenças cardiovasculares e sintomas da menopausa (FELIX et al, 2011).

Devido aos seus produtos secundários, como as isoflavonas, carboidratos, ácidos graxos, vitaminas, cálcio, fósforo, ferro, e teores de proteínas em aproximadamente 40%, o soja auxilia casos de desnutrição, fortalecendo seu consumo no mercado (ROSA et al, 2009).

O soja possui alto valor nutritivo, baixo conteúdo de água, e capacidade de produzir diversos subprodutos para a alimentação humana e animal, como óleo e derivados industriais. Essas características têm tornado essa cultura atrativa (DORNELES et al, 2011). A crescente busca mundial pela soja, gerou um aumento de investimento para o desenvolvimento de tecnologias, de novos produtos e principalmente pesquisas científicas (ROSA et al, 2009).

Levantamento realizado na safra 2016/17 o Brasil atingirá uma produção de 113 milhões de toneladas, 18%, superior à produção obtida na safra anterior principalmente devido ao clima que apresentou destacada influência (CONAB, 2017).

Atualmente há uma conscientização da necessidade de se obter melhoria na eficiência da aplicação de produtos fitossanitários, a qual deverá ser alcançada com a evolução no processo de aplicação como por exemplo, no do desenvolvimento de novos equipamentos com maior eficiência (BRAGA, 2006). Na maioria das vezes, observa-se maior importância ao produto em si e menor atenção à técnica de aplicação, prejudicando assim sua eficácia, perda de produção e danos ao ambiente e à saúde humana (REIS et al, 2010).

Em meados da década de 40, o uso dos agrotóxicos no país começou a se difundir, e só no fim da década de 60 que o consumo aumentou devido à isenção de impostos, taxas de importação de produtos, e uso da aviação agrícola (PORTO; SOARES, 2012).

A busca pelo aumento da rentabilidade pelos agricultores está diretamente ligada à aplicação de defensivos agrícolas, prática esta que deve atender melhor manejo da área cultivada com menor degradação do ambiente (SUGUISAWA et al, 2007).

O destino dos pesticidas no ambiente está relacionado a fatores, como suas propriedades físico-químicas, métodos de aplicação, quantidade e frequência de uso (MARIOT et al, 2009).

O plantio direto e a rotação de culturas são práticas agrícolas que degradam menos o solo e visam uma maior sustentabilidade da agricultura reduzindo a incidência de pragas, doenças e plantas daninhas. Essas práticas favorecem os componentes físicos, químicos e biológicos dos solos (LANTMANN, 2016).

A soja apresenta excelente adaptação ao sistema plantio direto, e é a principal cultura para compor os sistemas de rotação lavoura pecuária, devido à aspectos econômicos e por estabelecer associação simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, sendo importante aporte de Nitrogênio para próxima cultura (MENDONÇA, 2012).

2.2 Comunidade microbiana do solo

O desenvolvimento dos microrganismos na camada superficial do solo é altamente favorecido pelas condições que o sistema de plantio direto propicia. Neste sistema preconiza o aumento da matéria orgânica e melhor atividade microbiana no solo, fundamental para a fertilidade, pois a diminuição de operações mecânicas no solo diminui os impactos negativos de fatores ambientais. A biomassa microbiana do solo representa a quantidade de carbono na forma viva, e normalmente sua atividade é superior nas camadas superficiais do solo quando comparadas com o preparo convencional do solo (SCHNEIDER, 2007).

No plantio direto ocorre maior retenção de carbono e nitrogênio orgânicos no solo, aumento da agregação das partículas, maior preservação dos resíduos na superfície como palhada e reestruturação do solo, e com a rotação de cultura gera como efeito aumento na fauna e biomassa microbiana do solo (VENZKE FILHO, 2003).

A comunidade microbiana pode ser afetada de maneira direta com as alterações que ocorrem no pH do solo e na disponibilidade de nutrientes, ou de maneira indireta pela neutralização de elementos tóxicos e disponibilidade de nutrientes (OLIVEIRA, 2004).

As interações benéficas ou antagônicas dos próprios microrganismos também podem influenciar modificações no equilíbrio dinâmico das populações

na comunidade microbiana do solo, determinando assim, a composição qualitativa e quantitativa da comunidade. O conhecimento desse equilíbrio e dos efeitos das práticas agrícolas sobre as populações na comunidade microbiana é importante, devido às inúmeras funções que esses microrganismos desempenham (PEREIRA et al, 1999). Eles podem estar presentes tanto no solo não rizosférico como na rizosfera, onde irão realizar processos metabólicos relevantes para o crescimento das plantas (MERCANTE, et al, 2008).

A comunidade microbiana é sensível as variações e toda atividade antrópica em agrossistemas influencia na qualidade do solo, a qual pode ser avaliada por bioindicadores da qualidade do solo (COSTA et al, 2014). Uma vez que a microbiota afeta, direta e indiretamente, a produtividade agrícola, o conhecimento dos processos em que a biomassa microbiana está envolvida torna-se de extrema importância para um manejo adequado do solo, almejando à sua produtividade e conservação (VARGAS; SCHOLLES, 2000).

Para avaliar a atividade microbiana, parâmetros microbiológicos como CBMS (carbono da biomassa microbiana do solo); Respiração basal (RBS); Quociente metabólico (qCO_2) e Quociente microbiano ($qMIC$) são avaliados.

2.3 Bioestimulante: Extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*)

A. nodosum, chamada de alga marrom, é encontrada em abundância no Atlântico Norte e cultivada comercialmente no litoral da Nova Escócia, utilizada como fertilizante na agricultura do Canadá, França e Inglaterra desde o século XIX. Inicialmente era aplicado ao solo em sua forma natural como fonte de matéria orgânica (SILVA et al, 2010). No Brasil, seu uso nas culturas em geral, se encontra em plena expansão, porém se faz necessário o conhecimento de informações mais precisas quanto ao seu uso adequado (SILVA et al, 2012).

Os bioestimulantes agem na degradação de substâncias de reserva das sementes, e na diferenciação, divisão e alongamento celular. Esses produtos favorecem o equilíbrio hormonal das plantas, a expressão do seu potencial genético e estimulam o desenvolvimento do sistema radicular (FERREIRA et al, 2007).

Compostos bioativos de algas marinhas contribuem no rendimento e qualidade das culturas. Dentre estas, a *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis é a

mais pesquisada por ser capaz de promover o crescimento vegetal, aumentar a produtividade e também induzir na planta a tolerância a estresses bióticos e abióticos (CARVALHO et al, 2013).

No início de 1970 o extrato de algas passou a ser utilizado em pulverizações foliares em diversas culturas, com maior uso em hortaliças, frutas e flores. A partir do ano 1991 a Comunidade Europeia credenciou o uso de produtos comerciais à base de extratos de algas para aplicações foliares ou no solo para a agricultura orgânica (SILVA et al, 2010).

A cada ano são colhidos em torno de 15 milhões de toneladas métricas de algas marinhas, e grande parte dos produtos derivados é utilizado como bioestimulante na agricultura, sendo contabilizados cerca de 25 produtos comercializados (FAO, 2012; KHAN et al, 2009).

Os extratos de *A. nodosum* são utilizados em diversas culturas, e comercializados em diferentes países com diversas funções como enraizadores, bioestimulantes e bioprotetores de plantas contra doenças e pragas (SILVA et al, 2012). Bioestimulantes podem aumentar a resistência a estresses, seja biótico ou abióticos, e também elevar a fertilidade do solo (KHAN et al, 2009; ALAN et al, 2013). No Brasil o Decreto nº 4.954 estabelece o uso extrato como agente complexante em formulações de fertilizantes para aplicação foliar e fertirrigação (MÓGOR et al, 2008).

Os extratos de alga são versáteis quanto ao modo aplicação, podendo ser aplicados no tratamento de sementes, na pulverização foliar, na fertirrigação, ou em suas combinações. O tratamento de sementes auxilia no estabelecimento inicial da cultura, além de aumentar o seu potencial de produção (CARVALHO et al, 2013).

Os extratos de *A. nodosum* apresentam compostos semelhantes a citocininas, auxinas, giberelinas, betaínas e alginatos, e possuem substâncias ainda não identificadas que possuem atividade similar à de alguns hormônios vegetais (CARVALHO et al, 2013).

As citocininas, fazem parte da classe de hormônios vegetais que promovem a divisão celular e retardam a senescência. Ainda, a zeatina, dihidrozeatina, isopentenil adenina, isopentenil adenosina compõem o complexo de citocininas (SILVA et al, 2012).

Os reguladores vegetais do grupo das giberilinas exógenas têm sido utilizados para a estimulação de crescimento de frutos em geral. Já os reguladores do grupo das auxinas têm entre as principais funções a prevenção da abscisão de frutos e folhas, enraizamento de estacas, promoção da floração, indução de partenocarpia, raleio de frutos e ação herbicida (LOSI, 2010).

As plantas sob condições de déficit hídrico tentam manter o seu equilíbrio hídrico acumulando solutos não tóxicos, sem interferir em seus processos fisiológicos. Um exemplo é a betaína, considerada osmólito-chave para o ajuste osmótico de vegetais em condições de estresse hídrico (CARLIN; SANTOS, 2009).

O alginato é um polissacarídeo auto degradável muito solúvel em água formando soluções viscosas, onde tal viscosidade diminui com a elevação da temperatura, formando um gel estável em pH de 5,0 a 10,0 (CAMPESE et al, 2007).

2.4 Fatores abióticos

O solo é como um reservatório de água para as plantas, porém nem sempre está com condições ideais para suprir prontamente a necessidade destas. A água disponível no solo para as plantas está situada entre os limites potenciais de água, os quais são titulados ponto de murcha permanente (PMP) e capacidade de campo (CC). O PMP refere-se ao teor de água no solo quando as plantas perdem sua turgescência nas folhas e não se recuperam, ou seja, a disponibilidade de água está inadequada e prejudica o desenvolvimento das plantas. A CC expressa à quantidade de água que permanece no solo após o excesso ter sido escoado e a taxa de movimento ascendente tenha decrescido de forma acentuada (SILVA, 2015).

A. nodosum é uma das espécies mais promissoras para o uso na agricultura como extrato de alga, principalmente devido à tolerância ao estresse hídrico, salino e altas e baixas temperaturas (ELANSARY et al, 2016).

Estresse hídrico se tornou o mais importante desafio para a agricultura (GUIMARÃES et al, 2011.), especialmente devido às mudanças climáticas que tem acelerado a frequência e a severidade da seca acima do normal. Além

disso, as plantas em geral são sensíveis quando não se tem água disponível, portanto é necessário o desenvolvimento de métodos de cultivo que permita maior tolerância ao estresse. Os extratos de *A. nodosum* pode favorecer o menor uso da água (ELANSARY et al, 2016).

O estímulo e equilíbrio de hormônios vegetais pela aplicação do extrato de algas, além de aumentar o crescimento e desenvolvimento da planta, auxiliam a tolerância de estresses ocasionados pelo meio ambiente (AYAD, 1998), conferindo resistência ao estresse de água, tanto excesso quanto a escassez, ou estresses relacionados à salinidade, temperatura e de deficiência de nutrientes (XU; LESKOVAR, 2015).

Em uma planta de soja a água representa em torno de 90% de seu peso, sendo esta, essencial para o desenvolvimento ideal da planta, particularmente nos estádios VE (emergência) e R1- R6 (início do florescimento até o enchimento completo das sementes) (MORANDO et al, 2014).

Naturalmente as plantas de soja produzem flores em excesso, e durante seu desenvolvimento cerca de 60 a 75% são abortadas. A quantidade de hormônios, a qualidade e quantidade de luz recebida e a competição por carboidratos estão entre os fatores fisiológicos que interfere no índice de aborto (BRANCHI et al, 2006).

Segundo Spann e Little (2011), diversas funções fisiológicas são alteradas pelo estresse hídrico, como abertura e fechamento de estômatos, e quando prolongado esse estresse pode afetar o crescimento e assimilação de gás carbônico pela planta de citros. Entretanto, há necessidade de estudos baseados na diferença entre o estresse hídrico moderado do severo, devido ao fato da possibilidade de diferentes respostas fisiológicas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Instalação dos experimentos e delineamento experimental

Foram conduzidos três ensaios distintos, sendo 2 ensaios a campo na Fazenda Escola da Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, *Campus* Luiz Meneghel, (CLM) – Bandeirantes – PR, 23°06'40.3"S 50°21'35.6"W, nas safras 2014/2015 e 2015/2016. Área de LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico típico com descrição química do solo na Tabela 1. O Terceiro ensaio foi

conduzido em casa de vegetação na UENP, 23°06'24.6"S 50°21'38.1"W, durante Novembro/2016 a Março/2017, em vasos de 9 kg. Os ensaios foram conduzidos sem adubação de base e cobertura.

Tabela 1. Análise química do solo na camada de 0-20 cm, antes da semeadura da soja.

pH	MO	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	P	SB	CTC	V	M
CaCl ₂	g dm ⁻³	-----	-----	cmol _c dm ⁻³	-----	-----	mg dm ⁻³	-----cmol _c dm ⁻³	-----	-----%	-----
5,70	25,75	0,68	7,97	2,75	0,00	3,69	24,93	11,40	15,10	75,47	0,00

Dados: [MO] = matéria orgânica; [SB] = soma de bases; [V] = saturação por bases; e [M] = saturação por Al³⁺

Os extratos líquidos comerciais da alga *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis, utilizados no presente trabalho foram Acadian® (29% s.s. – sólidos solúveis) (Tabela 2 e 3) e Toggle® (9% s.s.) (Tabela 4 e 5).

Tabela 2. Especificações físicas do extrato líquido comercial Acadian®.

Dados físicos	Descrição
Aparência	Líquido viscoso marrom-escuro
Odor	Odor marinho
Subilidade em água	100%
pH	7,4 – 8,2

Fonte: Acadian Seaplants Limited, 2015

Tabela 3. Especificações químicas do extrato líquido comercial Acadian®.

Análises discriminatórias	Quantidade
Matéria orgânica	13 – 16%
Nitrogênio total (N)	0,30 – 0,60%
Fosfato disponível (P ₂ O ₅)	< 0,1%
Potássio solúvel (K ₂ O)	5,00 – 7,00%
Enxofre (S)	0,30 – 0,60%
Magnésio (Mg)	0,05 – 0,10%
Cálcio (Ca)	0,10 – 0,20%
Ferro (Fe)	30 – 80 ppm
Cobre (Cu)	01 – 05 ppm
Zinco (Zn)	05 – 15 ppm
Manganês (Mn)	01 – 05 ppm
Boro (B)	20 – 50 ppma
Carboidratos	Ácido algínico, manitol e fucoidinas
Aminoácidos	1,01%

Fonte: Acadian Seaplants Limited, 2015.

Tabela 4. Especificações físicas do extrato líquido comercial Toggle®.

Dados físicos	Descrição
Aparência	Líquido viscoso marrom-escuro
Odor	Odor marinho
Subilidade em água	100%
pH	5,4 – 6,3

Fonte: Acadian Seaplants Limited, 2015

Tabela 5. Especificações químicas do extrato líquido comercial Toggle®.

Análises discriminatórias	Quantidade
Matéria orgânica	4,0 – 5,0%
Nitrogênio total (N)	0,10 – 0,30%
Fosfato disponível (P ₂ O ₅)	0,40 – 1,20%
Potássio solúvel (K ₂ O)	1,00 – 2,50%
Enxofre (S)	0,09 – 0,18%
Magnésio (Mg)	0,01 – 0,05%
Cálcio (Ca)	0,01 – 0,05%
Ferro (Fe)	10 – 30 ppm
Cobre (Cu)	< 05 ppm
Zinco (Zn)	01 – 10 ppm
Manganês (Mn)	< 04 ppm
Boro (B)	5,0 – 20 ppm
Carboidratos	Ácido algínico, manitol e fucoidinas
Aminoácidos	Vários

Fonte: Acadian Seaplants Limited, 2015

Na safra 14/15 foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) cv. Monsoy 6410 IPRO, com as seguintes características: grupo de maturação precoce, boa altura de planta, indicada para semeadura a partir de 15 de outubro até o mês de novembro para solos de alta fertilidade.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso (4 x 5) com cinco repetições por tratamento, parcelas de 5 x 10 m (Tabela 6).

Tabela 6. Descrição dos tratamentos ensaio safra 2014/2015.

Tratamentos	Descrição
T 1	Testemunha (sem extrato de algas)
T 2	2 mL Kg ⁻¹ sementes e duas aplicações foliares de 250 mL ha ⁻¹ de extrato de <i>A. nodosum</i> 29%
T 3	2 mL Kg ⁻¹ sementes e duas aplicações foliares de 500 mL ha ⁻¹ de extrato de <i>A. nodosum</i> 29%
T 4	2 mL Kg ⁻¹ sementes e duas aplicações foliares de 1000 mL ha ⁻¹ de extrato de <i>A. nodosum</i> 29%

O extrato avaliado foi de uso comercial Acadian® (29% s.s. – sólidos solúveis) e aplicação foliar nas fases fenológicas R1 (início florescimento) e R5 (enchimento de grãos).

Na safra 15/16 utilizou-se sementes de soja cultivar (cv.) BMX Potência RR, a qual apresenta maturação tardia, porte alto e indicado para abertura de plantio. O delineamento experimental foi blocos ao acaso (5 x 4) com quatro repetições por tratamento, totalizando 20 parcelas de 5 x 10 m.

Os extratos avaliados foram de uso comercial (Acadian® 29% s.s. e Toggle® 9% s.s.), fornecidos por Acadian Seaplants Ltd., o qual foi inoculado nas

sementes, e aplicação foliar nas fases R1 e R5, conforme descritos na tabela 7. O tratamento T2 (2 mL Kg⁻¹ semente (TS) e duas aplicações foliares de 500 mL ha⁻¹ – de extrato *A. nodosum* 29%) foi a dose com melhor resposta na safra 14/15, e esta foi utilizada como parâmetro comparativo além da testemunha.

Tabela 7. Descrição dos tratamentos ensaio safra 2015/2016.

Tratamentos	Descrição
T 1	Testemunha (sem extrato de algas)
T 2	2 mL Kg ⁻¹ semente (TS) e duas aplicações foliares de 500 mL ha ⁻¹ – de extrato de <i>A. nodosum</i> 29%
T 3	2 mL Kg ⁻¹ semente (TS) de extrato de <i>A. nodosum</i> 29% e duas aplicações foliares de 500 mL ha ⁻¹ – de extrato de <i>A. nodosum</i> 9%
T 4	2 mL Kg ⁻¹ semente (TS) de extrato de <i>A. nodosum</i> 29% e duas aplicações foliares de 1000 mL ha ⁻¹ – de extrato de <i>A. nodosum</i> 9%
T 5	2 mL Kg ⁻¹ semente (TS) de extrato de <i>A. nodosum</i> 29% e duas aplicações foliares de 1500 mL ha ⁻¹ – de extrato de <i>A. nodosum</i> 9%

Para os ensaios a campo (safra 14/15 e safra 15/16) utilizou-se o sistema de plantio direto por semeadura manual, com espaçamento de 0,45 m entre as linhas e 12 sementes m⁻¹.

No ensaio na casa de vegetação a cv. utilizada foi TMG 7062 IPRO, sendo esta de ciclo e porte médio, indicada para semeadura a partir de 30 de setembro. O ensaio foi conduzido em vasos inteiramente casualizados (2 x 25) com vinte e cinco repetições por tratamento totalizando 50 vasos. A dose adotada no T2 foi baseada nos resultados do experimento conduzido na safra 15/16 devido a melhor resposta obtida (Tabela 8).

Os extratos avaliados foram de uso comercial (Acadian® e Toggle®), já descritos anteriormente fornecidos pela Acadian Seaplants Ltd., o qual foi inoculado nas sementes, e em pulverização nas fases R1 e R5.

Tabela 8. Descrição dos tratamentos ensaio em casa de vegetação.

Tratamentos	Descrição
T1	Testemunha (sem extrato de algas)
T2	2 mL Kg ⁻¹ semente(TS) de extrato de <i>A. nodosum</i> 29% e duas aplicações foliares de 500 mL ha ⁻¹ de extrato de <i>A. nodosum</i> 9%

Todos os vasos foram mantidos a 60% de capacidade de campo (CC), para tanto 200 g de solo foi seco em estufa a 105 °C por 72 horas. Após a secagem 100 g de solo foi acondicionado em funil com papel filtro e hidratado

com 100 mL de água para determinar a retenção máxima de água do solo, determinando a capacidade de campo (CC).

A semeadura foi realizada manualmente, com 3 sementes por vaso, e os vasos distribuídos de forma a simular o espaçamento de 10 sementes por metro. Após a emergência das plantas realizou-se o desbaste deixando a planta mais vigorosa.

Do total de 25 vasos para cada tratamento, 5 destes foram separados e submetidos apenas a um estresse hídrico durante o florescimento, para realizar as avaliações da massa fresca (MF) e massa seca (MS) da raiz e da parte aérea, diâmetro, área foliar e contagem de inflorescências (flores e vagens). E em 18 vasos, a contagem de flores e vagens a partir de R1 até a maturação da cultura, porém estes foram submetidos a dois estresses, um no florescimento e outro no início do enchimento de grãos.

O estresse hídrico foi realizado nas fases fenológicas pré-determinadas e as plantas foram mantidas próximas ao ponto de murcha (PMP), e após cada estágio fenológico, retornava-se à irrigação para manter a umidade do solo a 60% CC.

Com o objetivo de obter visualmente uma resposta da planta foram separados quatro vasos, dois tratados com o extrato de alga e dois sem tratar (todos nas mesmas condições de água, na CC a 60%), e em seguida foram mantidos em uma sala com temperatura média de 28,3°C e umidade relativa do ar de 64,5%, estes foram submetidos ao estresse hídrico durante 4 dias, a falta de água e ao excesso, e fotografados a cada hora até se encontrarem próximos ao ponto de murcha permanente e no 5º dia reidratados com 500 mL de água (Figura 1).

O tratamento de sementes foi realizado com o mesmo procedimento para todos os experimentos. As sementes (1000 g) de cada tratamento foram colocadas no interior de embalagens plásticas e, sobre elas, o extrato de alga e o inoculante líquido foram aspergidos. Posteriormente, as embalagens foram infladas com ar e, em seguida, agitadas até o ponto em que observou-se a cobertura homogênea das sementes pelo produto. Para realizar as aplicações foliares, foi utilizado pulverizador costal de pressão constante (CO₂) e vazão de 200 L ha⁻¹.



Figura 1. Estrutura para fotografar as plantas submetidas ao estresse hídrico.

3.2 Coletas e preparo de amostras de solo para análises químicas do solo e para análises microbiológicas

A coleta do solo para análises químicas e biológicas foi realizada antes da semeadura, 45 após emergência e logo após a colheita na safra 14/15. Já na safra 15/16 a coleta foi realizada apenas após a colheita. Nas análises microbiológicas foram avaliados Carbono da Biomassa Microbiana (CBM), Respiração basal (RBS), Quociente metabólico (qCO_2) e Quociente microbiano ($qMIC$) após a primeira aplicação do extrato de alga. Todas as coletas consistiram de 20 amostras retiradas na profundidade de 0 – 10 cm, onde cada amostra foi constituída por 5 sub-amostras retiradas em pontos aleatórios dentro de cada parcela.

As sub-amostras coletadas foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos e transportadas em caixa térmica ao Laboratório de Microbiologia do Solo, da Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, onde foram separadas de resíduos vegetais e animais e peneiradas em malha de 2 mm.

3.3 Análise química do solo

Após secar as amostras de solo ao ar, foram determinados o pH em $CaCl_2$ 0,01 M, P, Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , e Al^{3+} . Os teores de Ca^{2+} , Mg^{2+} e Al^{3+} foram

extraídos com KCl 1 N e determinados por absorção atômica (Ca^{2+} e Mg^{2+}) e titulação com NaOH 0,025 M (Al^{3+}); P e K^+ foram extraídos com o extrator Mehlich-1 e determinados por espectrofotometria de ionização de chama (K^+) e pelo método do azul de molibdênio (P), conforme Embrapa (2009).

3.4 Determinação de carbono da biomassa microbiana do solo

O carbono da biomassa microbiana do solo (C-BMS) foi determinado pelo método de fumigação-extração indireta (FEI) proposta por Silva et al. (2007a). As amostras de solo de cada um dos tratamentos foram separadas e pesadas (20 g) em duplicatas, sendo uma para fumigação e outra para não fumigação.

A fim de possibilitar o rompimento da membrana biológica dos microrganismos e a liberação do conteúdo celular ao meio, as amostras foram fumigadas em dessecador contendo béquers com 50 mL de clorofórmio livre de etanol (CHCl_3). O dessecador foi internamente recoberto com papel toalha umedecido e tampado, sendo posteriormente submetido a vácuo por 4 minutos e incubado por 24 horas em ambiente escuro (VANCE et. al., 1987).

Após esse período de incubação, o dessecador foi aberto para possibilitar aeração e, em seguida, novamente submetido a vácuo por 4 minutos, sendo esse procedimento repetido de 5 a 6 vezes para a eliminação do clorofórmio.

A extração do CBMS foi efetuada com 50mL de solução de sulfato de potássio (K_2SO_4) 0,5 M sob agitação a 175 rpm por período de 50 minutos e filtrado em papel quantitativo para obtenção do extrato.

A determinação do teor de CBMS foi realizado por titulometria (WALKLEY; BLACK, 1934, modificado por TEDESCO et. al., 1995). foram transferidos 8 mL dos extratos filtrados para erlenmeyers de 250 mL, adicionando 2 mL de solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 0,066 M e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) P.A.

Após resfriamento foram acrescentados 70mL de água deionizada, 5 mL de ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4) P.A. e 4 gotas de difenilamina ($(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NH}$) 1% (m/v) em H_2SO_4 P.A., seguido de titulação com sulfato ferroso amoniacal $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ 0,033 M.

Por este método, ocorre a oxidação do C orgânico a CO_2 e H_2O por íon de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) 0,066 M em meio forte ácido. Com a reação

descrita, é considerado que o dicromato consumido é equivalente ao C presente na amostra e o excedente titulado com solução padronizada de sulfato ferroso amoniacal.

A determinação do carbono dos extratos fumigados e não fumigados foi calculado de acordo com a equação 1:

$$\text{Equação 1: } C \text{ (mg C Kg}^{-1} \text{ solo)} = \frac{(V_b - V_a \cdot M \cdot 0,003 \cdot V_1 \cdot 10^6)}{P_s \cdot V_2}$$

Em que:

C - carbono extraído do solo;

V_b - volume de sulfato ferroso amoniacal consumido na titulação da solução controle (branco) (mL);

V_a - volume de sulfato ferroso amoniacal consumido na titulação da amostra (mL);

M - molaridade exata do sulfato ferroso amoniacal;

V_1 - volume do extrator (K_2SO_4) utilizado (mL);

V_2 - alíquota pipetada do extrato para a titulação (mL);

0,003 - miliequivalente do carbono;

P_s - massa de solo seco (g).

Por meio da subtração entre os teores de carbono do solo fumigado e não fumigado, pode-se obter o carbono da biomassa microbiana, sendo calculado conforme a equação 2:

$$\text{Equação 2: } CBMS \text{ (mg C microbiano Kg}^{-1} \text{ solo)} = \frac{FC}{kc}$$

Em que:

CBMS - carbono da biomassa microbiana do solo (mg de C kg^{-1} de solo);

FC - fluxo obtido da diferença entre a quantidade de C (mg kg^{-1} solo) da Equação 1, recuperada no extrato da amostra fumigada e a recuperada na amostra não fumigada;

kc - fator de correção (0,33), preconizado por Sparling; West (1988).

3.5 Determinação da respiração basal e quociente metabólico do solo

A respiração basal do solo e qCO_2 foram determinados segundo metodologia proposta por Silva et al (2007b).

Foram pesados 50 g de cada uma das amostras em frascos snap-caps, sendo que para cada amostra foram separados 10 mL de NaOH 1 M a serem utilizados como solução receptora. Em seguida as amostras de solo e receptor, foram transferidas para potes de 2L fechados hermeticamente, os quais foram armazenados pelo período de 7 dias em local escuro e em temperatura entre 25-28°C.

Após o período de incubação, foi retirada a solução NaOH e adicionados 2 mL de solução de $BaCl_2$ 10% (m/v) e 2 gotas de fenolftaleína 1% (m/v). A sobra de NaOH foi titulada com solução de ácido clorídrico (HCl) 0,5 M.

O cálculo para quantificação da respiração basal do solo foi efetuado conforme a equação 3:

$$\text{Equação 3: } RBS \text{ (mg de C - CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ solo hora}^{-1}) = \frac{\left(\frac{(V_b - V_a) \cdot M \cdot 6 \cdot 1000}{P_s} \right)}{T}$$

Em que:

RBS – carbono proveniente da respiração basal do solo;

V_b – volume de solução de HCl consumido na titulação da solução controle (branco) (mL);

V_a – volume de solução de HCl consumido na titulação da amostra (mL);

M – molaridade exata da solução de HCl;

P_s – massa de solo seco (g);

T – tempo de incubação da amostra (horas).

Após obter os valores de CBMS e RBS foi determinado o quociente metabólico do solo, por meio da equação 4:

$$\begin{aligned} \text{Equação 4: } qCO_2 \text{ (mg C - CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ CBMS}^{-1}) \\ = \frac{RBS \text{ (mg C - CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ solo hora}^{-1})}{(CBMS \text{ (mg C Kg}^{-1} \text{ solo)} \cdot 10^{-3})} \end{aligned}$$

Em que:

qCO_2 – quociente metabólico do solo;

RBS – respiração basal do solo;

C-BMS – carbono da biomassa microbiana do solo.

3.6 Determinação do carbono orgânico total (COT) e $qMIC$

A determinação do COT foi realizada em combustão da matéria orgânica via úmida, com uso de 0,5g de amostra, segundo Walkley; Black (1934), modificado por Tedesco et. al. (1995), sem aquecimento externo em chapa.

O quociente microbiano ($qMIC$) foi determinado pela razão CBMS/COT.

3.7 Avaliações na soja

Nas safras 14/15 e 15/16, 10 plantas por parcela foram marcadas com uma fita afim de avaliar o número de flores e vagens por planta da fase R2 até a fase R6. Também foi avaliado a massa fresca (MF) e seca (MS) da parte aérea.

No ensaio em vaso foi avaliado o número de flores e vagens por planta da fase R2 até a fase R6, massa fresca (MF) e seca (MS) da raiz e parte aérea, diâmetro do caule a 5 cm da base da planta com a utilização de um paquímetro digital e foi coletado 4 trifólios por planta (11º ao 14º nó) para a análise da área foliar (cm²) com o auxílio do programa SFP (SACHS, L. G.; FELINTO, A. S.; PORTUGAL, A. P. 1.5.2 Aplicativo para determinação de área. Versão alfa, 2005) *.

Após a pesagem do material fresco, estes foram submetidos à secagem a 65°C em estufa de circulação de ar forçada, durante 72 horas, para obtenção de massa seca.

Nos ensaios a campo a produtividade de grãos foi avaliada por meio da colheita das plantas presentes na área de 0,9 m² (2 metros lineares) por parcela. No vaso foi avaliado a produção por planta sendo utilizado 18 vasos por tratamento em que cada vaso tinha 1 planta e o peso de cem sementes (P.C.S.) por vaso. Todos os dados foram corrigidos para 13% de umidade.

* Informação pessoal

3.8 Análise estatística

Os resultados foram analisados por análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se software SASM-Agri.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Ensaio a campo safra 2014/2015

Não houve diferenças significativas nas variáveis químicas do solo avaliadas 45 dias após a aplicação do extrato de *Ascophyllum nodosum*, com exceção do magnésio que apresentou aumento no T4 (Tabela 9).

Tabela 9. Análise química do solo na camada de 0 – 0,2 m 45 dias após a aplicação do extrato de *A. nodosum*.

Tratamento	pH CaCl ₂	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al
			cmol _c dm ⁻³			
T1	5,93 a	0,63 a	7,86 a	2,22 b	0,00 a	3,40 a
T2	5,72 a	0,59 a	7,14 a	2,24 b	0,00 a	3,71 a
T3	5,90 a	0,68 a	7,24 a	2,36 ab	0,00 a	3,65 a
T4	5,94 a	0,59 a	7,40 a	2,68 a	0,00 a	3,28 a
CV (%)	2,48	21,10	9,46	9,42	0,00	6,72
Tratamento	MO g dm ⁻³	P mg dm ⁻³	SB	CTC _{pH7,0}	V	M
			cmol _c dm ⁻³		%	
T1	27,14 a	27,06 a	10,71 a	14,11 a	75,83 a	0,00 a
T2	25,26 a	24,24 a	9,97 a	13,67 a	72,81 a	0,00 a
T3	27,94 a	20,96 a	10,28 a	13,93 a	73,81 a	0,00 a
T4	27,67 a	27,54 a	10,67 a	13,95 a	76,38 a	0,00 a
C.V. (%)	14,87	20,82	7,57	5,34	2,88	0,00

Dados: [MO] = matéria orgânica; [SB] = soma de bases; [V] = saturação por bases; e [M] = saturação por Al³⁺. [T1] = Controle sem extrato de algas; [T2] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *Ascophyllum nodosum* e 500mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T3] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T4] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Após a colheita da soja, mesmo com a extração de nutrientes pela cultura, não houve alterações significativas na química do solo (Tabela 10).

A produtividade no T3 foi 57,64% (3625,89 Kg ha⁻¹) superior ao tratamento 1 (2300 Kg ha⁻¹), fato este observado também quanto a peso fresco e seco da planta e número de inflorescência observados nos estádios fenológicos R2, R4-R5 e R6, além de um menor abortamento destes ao final do ciclo reprodutivo (Tabela 11).

Tabela 10. Análise química do solo na camada de 0 – 0,2 m na pós colheita 2014/2015.

Tratamento	pH	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al
	CaCl ₂	cmol _c dm ⁻³				
T 1	6,00 a	0,71 a	8,36 a	2,86 a	0,00 a	3,81 a
T 2	5,90 a	0,63 a	8,08 a	3,02 a	0,00 a	3,58 a
T 3	6,06 a	0,78 a	7,78 a	3,00 a	0,00 a	3,84 a
T 4	5,98 a	0,78 a	8,32 a	3,06 a	0,00 a	3,75 a
C.V. (%)	2,69	16,67	9,19	13,13	0,00	10,42 a
Tratamento	MO	P	SB	CTC _{pH7,0}	V	M
	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	cmol _c dm ⁻³		%	
T 1	27,64 a	27,04 a	11,93 a	15,74 a	75,72 a	0,00 a
T 2	25,76 a	26,46 a	11,73 a	15,31 a	76,58 a	0,00 a
T 3	28,28 a	26,98 a	11,56 a	15,41 a	75,04 a	0,00 a
T 4	28,44 a	35,60 a	12,16 a	15,91 a	76,30 a	0,00 a
C.V. (%)	6,6	23,93	7,15	4,30	3,91	0,00

Dados: [MO] = matéria orgânica; [SB] = soma de bases; [V] = saturação por bases; e [M] = saturação por Al³⁺. [T1] = Controle sem extrato de algas; [T2] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *Ascophyllum nodosum* e 500mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T3] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T4] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 11. Parâmetros agrônômicos avaliados (Massa fresca e seca da planta, número de inflorescência, porcentagem de abortamento e produtividade em hectare) pelo efeito da aplicação do extrato de *Ascophyllum nodosum* na cultura da soja.

TRAT.	MF	MS	Inflorescência *			Aborto **	Produt.
	g planta ⁻¹		R2 ***	R4-5 ***	R6 ***	%	Kg ha ⁻¹
T1	134,92 b	26,77 b	50,24 c	84,16 c	60,74 c	27,4 ab	2300,0 b
T2	140,15 b	29,08 b	58,68 c	100,82 b	70,06 b	30,4 a	2740,7 ab
T3	176,68 a	34,91 a	76,50 a	120,40 a	99,90 a	16,4 b	3625,9 a
T4	176,91 a	36,87 a	67,48 b	102,72 b	71,98 b	29,3 a	3040,7 ab
C.V. (%)	3,48	5,23	11,31	9,16	9,66	36,04	17,30

Dados: (*) Número de flores e/ou vagens por planta; (**) Porcentagem de abortamento; (***) Estádio fenológico da soja. [MF] = Massa Fresca parte aérea; [MS] = Massa Seca parte aérea; [T1] = Controle sem extrato de algas; [T2] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *Ascophyllum nodosum* e 500mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T3] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T4] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%.

Segundo Khan et al. (2009) a aplicação dos extratos de *A. nodosum* como bioestimulantes foliares ou como fertilizantes suplementares inoculados em sementes, podem auxiliar no estabelecimento inicial e aumentar o potencial de produção das culturas, pela maior tolerância a diversos estresses bióticos e abióticos. Outro fator observado foi que as substâncias bioativas extraídas de algas marinhas apresentarem efeito no aumento da raiz e no crescimento da parte aérea da planta (FAN et al., 2011). Resultados também obtidos no trabalho, em que observou-se melhor desenvolvimento inicial das plantas.

O incremento na produtividade no T3 pode também estar relacionado ao menor abortamento das flores e vagens ao final do ciclo, sendo este

aproximadamente 50% menor comparado a outros tratamentos. Um dos fatores do alto abortamento na soja é decorrente ao estresse ambiental. A aplicação do extrato de *Ascophyllum nodosum* nas fases R1 e R5 suprimiu o estresse hídrico sofrido pela planta durante o seu estágio reprodutivo, passando por um período de 17 dias sem chuva e altas temperaturas.

Os microrganismos são considerados bioindicadores sensíveis a alterações ambientais, por expressar rapidamente as mudanças ambientais. Observou-se em nosso estudo que a comunidade microbiana foi significativamente maior em áreas com aplicação do extrato de algas (ANOVA $p < 0,002$). Comparação entre as doses do extrato não houve diferença estatística. E, quanto ao estresse metabólico (qCO_2) e quociente microbiano ($qMIC$) não foram observados diferença entre tratamentos (Tabela 12), no entanto, o tratamento T3 indica melhor aproveitamento do C pelos micro-organismos. De acordo com Baretta et al (2005) a relação entre carbono microbiano e carbono orgânico total denominada $qMIC$ tem sido utilizada como indicador de qualidade da matéria orgânica presente no solo, esses valores expressam a eficiência da biomassa microbiana em utilizar o C desta matéria orgânica. Valores maiores e menores a 1,8% expressam acúmulo ou perda de C respectivamente.

Tabela 12. Atributos microbiológicos avaliados 45 dias após a aplicação do extrato de *A. nodosum*, na safra 2014/2015.

Tratamento	CBM mg C Kg ⁻¹ solo	RBS mg C-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	qCO_2 RBS/CBM	$qMIC$ %
T1	294,87 b	0,50 a	1,78 a	2,25 a
T2	363,76 a	0,45 a	1,29 a	2,60 a
T3	344,43 ab	0,55 a	1,55 a	1,44 a
T4	370,33 a	0,46 a	1,27 a	2,40 a
C.V. (%)	8,30	33,95	41,63	20,62

Dados: [CBM] = Carbono da Biomassa Microbiana; [RBS] = Respiração Basal do Solo; [qCO_2] = Quociente metabólico; [$qMIC$] = Quociente microbiano; [T1] = Controle sem extrato de algas; [T2] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *Ascophyllum nodosum* e 500mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T3] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T4] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A redução acentuada no CBM, RBS e $qMIC$ ocorrida no T3 foi devido a menor taxa de abortamento das flores (Tabela 13), que fez com que a planta alocasse maior quantidade de carbono para o desenvolvimento das estruturas reprodutivas, e conseqüentemente, pode ter ocorrido uma redução na alocação de C para as raízes, reduzindo a taxa de exsudação no solo (TAIZ; ZEIGER,

2004). A exsudação radicular de compostos orgânicos, liberados ativa ou passivamente, ocorre durante todas as fases do desenvolvimento da planta, porém, em diferentes quantidades e composições (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; SILVA, 2011).

Os exsudatos influenciam o crescimento de bactérias e fungos que colonizam a rizosfera pela alteração do ambiente do solo circundante (SILVEIRA; FREITAS, 2007). Portanto, a menor exsudação pelas plantas no T3, devido à maior produção de flores, pode ter resultado no aumento significativo do indicativo de estresse qCO_2 na comunidade microbiana.

Tabela 13. Atributos microbiológicos avaliados na pós colheita, na safra 2014/2015.

Tratamento	CBM mg C Kg ⁻¹ solo	RBS mg C-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	qCO_2 RBS/CBM	$qMIC$ %
T1	271,49 a	0,58 a	2,06 b	1,70 a
T2	208,04 b	0,65 a	2,70 ab	1,40 a
T3	146,52 c	0,47 b	3,27 a	0,88 b
T4	270,53 a	0,60 a	2,15 b	1,46 a
C.V. (%)	14,09	9,39	2,06	17,38

Dados: [CBM] = Carbono da Biomassa Microbiana; [RBS] = Respiração Basal do Solo; [qCO_2] = Quociente metabólico; [$qMIC$] = Quociente microbiano; [T1] = Controle sem extrato de algas; [T2] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *Ascophyllum nodosum* e 500mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T3] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%; [T4] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2000mL ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 29%. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

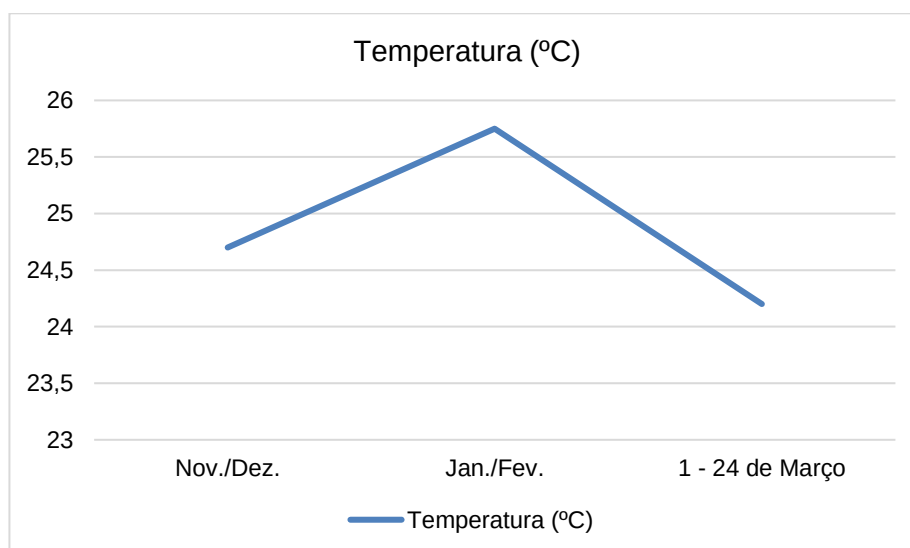


Figura 2. Temperatura média no período da cultura 2014/2015.

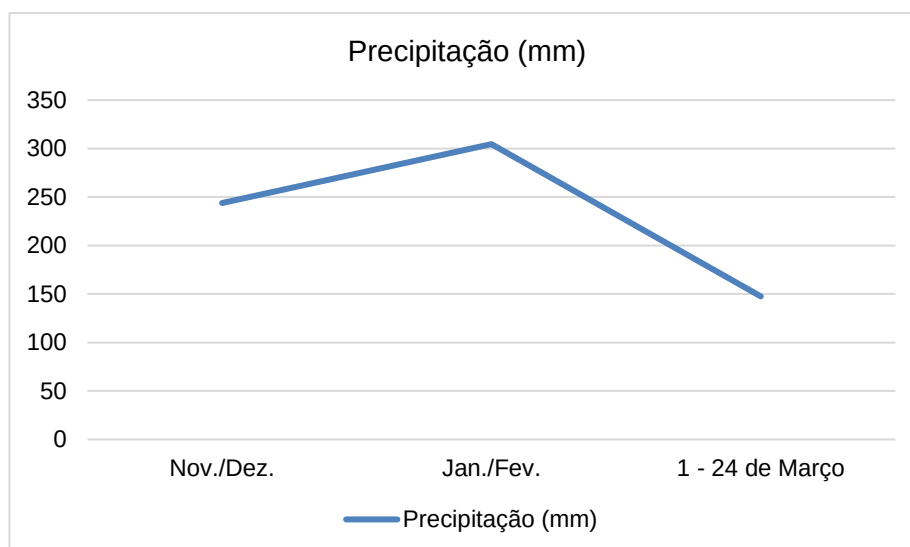


Figura 3. Índice pluviométrico no período da cultura 2014/2015.

4.2 Ensaio a campo safra 2015/2016

As análises químicas e microbiológicas do solo avaliadas na pós-colheita, não apresentaram diferença estatística nos parâmetros avaliados (Tabela 15 e 16), no entanto, podemos observamos nos tratamentos T2 e T3 melhores resultados quanto ao CBM, qCO_2 e $qMIC$, ou seja, maior biomassa microbiana, menor estresse metabólico e melhor aproveitamento do C disponível no solo, respectivamente (Tabela 15).

Tabela 14. Análise química do solo na camada de 0 – 20 cm pós-colheita da soja 2015/2016.

Trat.	pH CaCl ₂	MO g dm ⁻³	P mg dm ⁻³	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC	V
							cmol _c dm ⁻³				%
T1	5,05	24,2	21,7	0,86	4,80	1,97	0,00	4,39	7,65	12,0	63,8
T2	5,10	24,1	20,5	0,95	4,60	2,40	0,00	4,19	7,90	12,1	65,5
T3	5,30	24,8	23,4	0,84	5,20	1,95	0,00	4,40	7,97	12,4	64,6
T4	5,10	24,5	25,6	0,90	4,55	2,27	0,00	5,24	7,72	13,0	59,9
T5	4,85	22,8	17,1	0,87	4,65	2,15	0,00	5,15	7,67	12,9	60,7

Dados: [MO] = matéria orgânica; [SB] = soma de bases; [V] = saturação por bases [$V = (SB/CTC_{pH7,0} \times 100)$]; e m: saturação por Al^{3+} [$m = (Al^{3+}/(SB + Al^{3+}) \times 100)$]. [T1] = Controle sem extrato de algas; [T2] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1 L ha⁻¹ via folha Extrato de *A. nodosum* 29%; [T3] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%; [T4] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%; T5 = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 3,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os microrganismos são considerados bioindicadores sensíveis a alterações ambientais, por expressar rapidamente as mudanças ambientais. A RBS possui estreita relação com as condições abióticas do solo, água, temperatura e aeração. (SILVA et al, 2007b; DADALTO et al, 2015).

Assim, com intuito de melhorar o desempenho do solo e de culturas agrícolas a utilização de extratos de alga tem aumentado (CARVALHO et al, 2013).

Tabela 15. Atributos microbiológicos avaliados 45 dias após a aplicação do extrato de *A. nodosum*.

Tratamento	CBM mg C Kg ⁻¹ solo	RBS mg C-CO ₂ Kg ⁻¹ h ⁻¹	qCO ₂ RBS/CBM	qMIC %
T1	150.56 a	0.46 a	3.13 a	1.08 a
T2	225.93 a	0.28 a	1.30 a	1.74 a
T3	247.08 a	0.34 a	1.45 a	1.69 a
T4	153.60 a	0.35 a	2.38 a	1.04 a
T5	205.09 a	0.50 a	2.42 a	1.51 a
C.V. (%)	18,52	39,85	48,99	42,13

Dados: [CBM] = Carbono da Biomassa Microbiana; [RBS] = Respiração Basal do Solo; [qCO₂] = Quociente Metabólico e [qMIC] = Quociente Microbiano. [T1] = Controle sem extrato de algas; [T2] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1 L ha⁻¹ via folha Extrato de *A. nodosum* 29%; [T3] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%; [T4] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%; [T5] = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 3,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Nas variáveis agrônômicas o tratamento T3 apresentou menor porcentagem de abortamento e observou-se tendência em relação a produtividade, tendo um incremento de 9,49 sacas ha⁻¹, comparado a Testemunha (T1) e 3,36 sacas ha⁻¹ comparado ao tratamento T2, no entanto, não foi significativo estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 16).

Tabela 16. Parâmetros agrônômicos avaliados (Número de inflorescência, porcentagem de abortamento e produtividade) pelo efeito da aplicação do extrato de *A. nodosum* na cultura da soja.

TRAT.	Inflorescência *			Aborto **	Produt.	Saca ha ⁻¹
	R2 ***	R4-5 ***	R6 ***	%	Kg ha ⁻¹	
T1	92,33	115,66	103,55	10,47	3.316,99 a	55,28 a
T2	110,30	122,97	108,87	11,46	3.684,33 a	61,41 a
T3	102,15	118,69	109,07	8,11	3.886,33 a	64,77 a
T4	102,16	122,18	109,05	10,74	3.811,33 a	63,52 a
T5	97,34	120,34	106,92	11,15	3.304,00 a	55,07 a
C.V. (%)	-	-	-	-	15,19	15,19

Dados: (*) Número de flores e/ou vagens por planta; (**) Porcentagem de abortamento; (***) Estádio fenológico da soja. T1 = Controle sem extrato de algas; T2 = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1 L ha⁻¹ via folha Extrato de *A. nodosum* 29%; T3 = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 1,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%; T4 = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 2,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%; T5 = 2,0 mL Kg⁻¹ extrato de *A. nodosum* 29% e 3,0 L ha⁻¹ via folha extrato de *A. nodosum* 9%. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

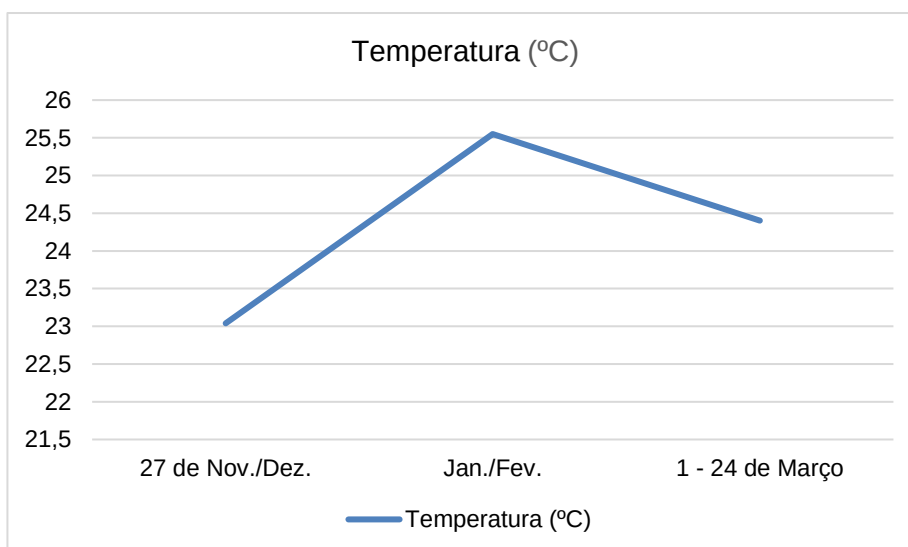


Figura 4. Temperatura média no período da cultura 2015/2016.

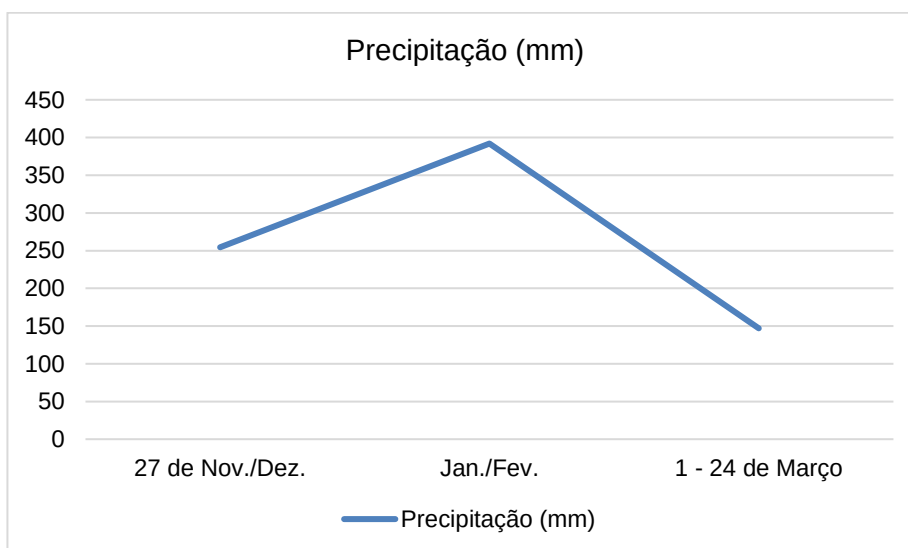


Figura 5. Índice pluviométrico no período da cultura 2015/2016.

Muitas culturas comercialmente importantes, como soja, também são sensíveis às baixas temperaturas. Estudos realizados à campo sobre cevada de inverno mostraram que a aplicação do extrato de *A. nodosum* resultou em aumento de resistência à geada (RAYIRATH et al, 2009). Com relação ao estresse de temperaturas elevadas juntamente com a seca, foi comprovado que houve maior produtividade de trigo em plantas com aplicação do extrato e uma melhora no rendimento de grãos de trigo cultivados sob condições de deficiência de potássio (SAA et al, 2015).

4.3 Ensaio em Casa de Vegetação condução em vasos

Nas avaliações agronômicas o diâmetro do caule apresentou diferença significativa, assim como na área foliar, não sendo significativo para as demais variáveis (Tabela 17 e 18). Em condições controladas em casa de vegetação os fatores abióticos como variação de temperatura, vento e umidade relativa do ar são suprimidos, mascarando os efeitos do estresse hídrico no desenvolvimento da planta.

O diâmetro do caule é um parâmetro avaliado para indicar a qualidade fisiológica da semente e o desenvolvimento inicial da planta. O efeito da aplicação do extrato de alga na semente pode ter ajudado a planta a um melhor desenvolvimento inicial com consequente maior diâmetro do caule (SCHUCH et al, 2009).

Quando analisou-se a massa das raízes, tanto massa fresca e massa seca, apesar de não apresentarem diferença estatística notamos que no tratamento com o extrato de alga, a raiz teve melhor desenvolvimento, resultando em maior massa fresca e seca.

De forma a compensar o estresse hídrico durante o estágio vegetativo que pode levar a planta a diminuir ou até mesmo cessar o seu desenvolvimento da parte aérea, as raízes podem continuar a crescer. Esta resposta ao estresse permite que a planta procure água adicional do solo. Presumindo que a disponibilidade de água se reestabeleça, a soja retoma o seu desenvolvimento e a taxa de crescimento da parte aérea pode ser maior do que a observada anteriormente (LENSSSEN, 2012).

Segundo Morando et al (2014), a diminuição na área foliar é outro quesito observado nas plantas sujeitadas ao estresse hídrico. Quando avaliou-se a área foliar coletando os trifólios do 11º ao 14º nó e analisadas com o aplicativo SFP (Figura 6) observou-se que as plantas tratadas tinham uma maior área foliar.

Com relação ao número de vagens e o índice de aborto não houve diferença estatística, portanto comparando o número de vagens por planta (Tabela 17), em que os vasos avaliados sofreram apenas o estresse hídrico durante o florescimento, podemos verificar que o aborto foi menor. Ao analisar a taxa de aborto, produção por planta e o peso de cem sementes (P.C.S), em que as plantas foram submetidas a estresse no florescimento e início do enchimento de grãos, notamos que a resposta da planta tratada com o extrato de algas teve

efeito compensatório no enchimento de grãos, mesmo com menor quantidade de vagens a planta tratada teve maior rendimento (Tabela 18).

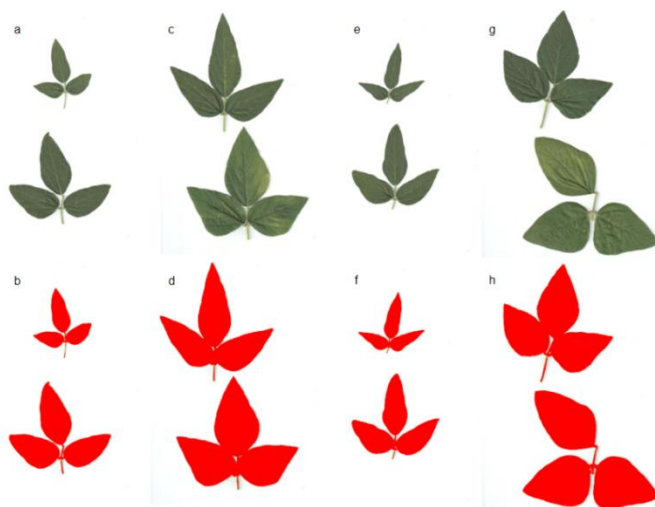


Figura 6. Avaliação da área foliar da soja com o programa SFP.

Dados: [a] – 14º e 13º trifólios T1; [b] – 14º e 13º trifólios T1 scaneados pelo programa SFC; [c] – 12º e 11º trifólios T1; [d] – 12º e 11º trifólios T1 scaneados pelo programa SFC; [e] – 14º e 13º trifólios T2; [f] – 14º e 13º trifólios T2 scaneados pelo programa SFC; [g] – 12º e 11º trifólios T2; [h] – 12º e 11º trifólio T2 scaneados pelo programa SFC;

Tabela 17. Parâmetros agrônômicos avaliados (massa fresca e seca da raiz, massa seca e fresca da parte aérea, diâmetro do caule e número de vagens por planta) pelo efeito da aplicação do extrato de *A. nodosum* na cultura da soja.

TRAT.	Raiz		Parte Aérea		Diâmetro caule	Inflorescência	Área foliar total
	MF	MS	MF	MS			
	g planta ⁻¹		g planta ⁻¹				
T1	74,24a	13,11a	103,77a	23,65a	6,49b	81,4a	185,68b
T2	81,02a	15,81a	102,14a	23,35a	7,10a	85,4a	238,75a
CV (%)	13,28	14,69	5,90	4,89	11,32	9,74	19,01

Dados: [MF] = massa fresco; [MS] = massa seca; diâmetro do caule a 5cm da base. [T1] = Testemunha (sem tratamento); [T2] = Sementes tratadas com Extrato de *A. nodosum* 29% - 2,0 mL Kg⁻¹ semente e aplicação foliar de Extrato de *A. nodosum* 9% - 1,0 L ha⁻¹. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 18. Parâmetros agrônômicos avaliados (Número de inflorescência, porcentagem de abortamento, produtividade por planta e P.C.S) pelo efeito da aplicação do extrato de *A. nodosum* na cultura da soja.

TRAT.	Inflorescência *			Aborto **	Produtividade por planta	PCS (g)
	R2 ***	R4-5 ***	R6 ***			
T1	77,82	81,6	40,8	50	16,49a	17,48a
T2	79,45	85,5	40,25	52,92	17,26a	18,54a
CV (%)	19,07	13,87	11,72	-	18,13	11,90

Dados: (*) Número de flores e/ou vagens por planta; (**) Porcentagem de abortamento; (***) Estádio fenológico da soja; (PCS) = peso de cem sementes; [T1] = Testemunha (sem tratamento); [T2] = Sementes tratadas com Extrato de *A. nodosum* 29% - 2,0 mL Kg⁻¹ semente e aplicação foliar de Extrato de *A. nodosum* 9% - 1,0 L ha⁻¹. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A capacidade da planta de se recuperar dos danos causados devido a uma situação de estresse diminui de acordo com o desenvolvimento da soja, a transição do estágio vegetativo para o reprodutivo, e consequentemente diminui o seu potencial produtivo (LANTMANN, 2016). Portanto o estresse hídrico durante o estágio da floração é fator primordial que interfere diretamente no aumento do índice de aborto.

No caso do abortamento de vagens, pode ocorrer compensação no peso do grão quando as condições hídricas se regularizam a tempo de neutralizar os efeitos negativos causados pelo estresse (FARIAS et al, 2007).

No período de enchimento de grão na soja a falta de água pode gerar uma diminuição no peso e no tamanho das sementes, e como a atividade das enzimas responsáveis pela degradação da clorofila também é afetada devido ao déficit hídrico consequentemente terá um elevado índice de grãos verdes (BORRMANN, 2009).

O resultado das avaliações visuais feitas com fotografias demonstrou o efeito positivo da aplicação do extrato de *A. nodosum* em plantas de soja quando submetida ao estresse por falta de água e a sua recuperação quando reidratada (Figura 7 e 8).

As respostas das plantas a diferentes tipos de estresses são variáveis, e o mesmo se reflete quando são submetidas a inundação do solo. Particularmente no caso da soja podemos atribuir a essa resposta a diversidade genética presente na cultura e que esta é uma espécie que pode responder a condição de alagamento do solo (LUDWIG et al, 2015). Com relação as plantas quando foram submetidas ao encharcamento do solo não se obteve nenhuma resposta tanto da planta tratada como a testemunha, pode ser que a variedade seja tolerante a determinado excesso de água.

O mesmo observado por Martynenko et al (2016), que realizou um experimento utilizando imagens térmicas da temperatura da folha como indicador do fechamento estomático em resposta ao estresse hídrico. No qual a planta tratada com o extrato de *A. nodosum* teve uma melhor adaptação ao estresse.



Figura 7. Plantas no início do estresse hídrico.



Figura 8. Plantas reidratadas após o estresse hídrico.

5 CONCLUSÃO

Aplicações foliares dos extratos líquidos comerciais da alga *Ascophyllum nodosum* (Acadian® e/ou Toggle®) apresentaram incremento de produtividade em diferentes doses na cultura da soja, sem causar impacto negativo a comunidade microbiana.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAN, M. Z.; BRAUN, G.; NORRIE, J.; HODGES, M. Effect of *Ascophyllum* extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. **Can. J. Plant Sci.** v.93, p.23-36, 2013.

APROSOJA Brasil, **A história da soja.** Disponível em: <<http://aprosojabrasil.com.br/2014/sobre-a-soja/a-historia-da-soja/>>. Acesso em 26 de agosto de 2015.

AYAD, J. Y. **The effect of seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract on antioxidant activities and drought tolerance of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.).** Dissertation in Agronomy. Graduate Faculty of Texas Tech University, 1998.

BARETTA, D.; SANTOS, J. C. P.; FIGUEIREDO, S. R.; KLAUBERG, O. F. Efeito do monocultivo de *Pinus* e de queima do campo nativo em atributos biológicos do solo no planalto sul Catarinense. **Rev. Bras. Ci. Solo.** v. 29, p. 715-724, 2005.

BIANCO, S.; CARVALHO, L. B.; BIANCO, M. S.; PITELLI, R. A. Acúmulo de massa seca e de macronutrientes por plantas de *Glycine max* e *Solanum americanum*. **Planta daninha** [online], v.30, n.1, p. 87-95, 2012.

BORRMANN, D. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores.** Tese (Doutorado em Bromatologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BRAGA, L. W. **Avaliação das condições de uso de pulverizadores Agrícolas no Estado de Mato grosso do Sul.** Dissertação (Profissionalizante em Produção e Gestão Agroindustrial) – UNIDERP, Campo Grande, 2006.

BRANCHI, I. H.; ROSA, A. DE S.; BLOCHTEIN, B. **Estresse hídrico e taxa de abortos em flores de soja no Rio Grande do Sul**. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18, 2006. Porto Alegre. Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, p. 142, 2006.

CAMPESE, G. M.; TAMBOURGI, E. B.; GUILHERME, M. R.; Moura, M. R.; Muniz, E. C.; YOUSSEF, E. Y. Resistência mecânica de hidrogéis termo-sensíveis constituídos de Alginato- Ca^{2+} / PNIPAAm, tipo Semi-IPN. **Quím. Nova**, v.30, n.7, p. 1649-1652, 2007.

CARLIN, S. D.; SANTOS, D. M. M. Indicadores fisiológicos da interação entre déficit hídrico e acidez do solo em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p. 1106-1113, 2009.

CARVALHO, M. E. A.; CASTRO, P. R. C.; NOVEMBRE, A. D. C.; CHAMMA, H. M. C. P. Seaweed extract improves the vigor and provides the rapid emergence of dry bean seeds. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 13, n. 8, p. 1104-1107, 2013.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, primeiro levantamento, outubro 2012** / Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: CONAB, p. 36, 2012.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento, maio 2017** / Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: CONAB, p.104, 2017.

COSTA, G. D.; SILVA, M. A. A.; DEMETRIO, G. B.; SILVA M. A.; MATSUMOTO, L. S. Influência da adubação nos atributos microbiológicos do solo na produção de milho silagem. **Synergismus scyentifica**, UTFPR, Pato Branco, v. 9, n. 1, 2014.

DADALTO, P. J.; FERNANDES, C. H.; TEIXEIRA, M. M.; PAULO R. CECON, R. C.; DE MATOS, T. A. Sistema de preparo do solo e sua influência na atividade microbiana. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 35, n. 3, p. 506-513, 2015.

DORNELES, L. M. C. REZENDE, D. F.; SOUSA, L. B.; HAMAWAKI, O. T. Diversidade genética entre linhagens de soja semi precoce no município de Goiatuba-GO, safra 2009/2010. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 1, p. 22-27, 2011.

ELANSARY, H. O.; SKALICKA-WOŹNIAK, K.; KING, I. W. Enhancing stress growth traits as well as phytochemical and antioxidant contents of Spiraea and

Pittosporum under seaweed extract treatments, **Plant Physiology and Biochemistry**, 105, 310-320, 2016.

EMBRAPA. **Reunião anual de pesquisa de soja da região Sul - 2000**. 2000. Disponível em: <www.cnpt.embrapa.br/i_soja.htm>. Acesso em: 14 jul. 2003.

EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA, 2009, p. 627.

FAN, D. HODGES, D.M.; ZHANG, J.; KIRBY, C. W.; JI, X.; LOCKE, S. J.; CRITCHLEY, A.T.; PRITHIVIRAJ, B. Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. *Food Chem*; v. 124, p. 195–202, 2011.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Year Book of Fisheries and Aquaculture Statistics**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, p. 401, 2012.

FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIR, N. **Ecofisiologia da soja**. EMBRAPA, ISSN 1516-7860, 2007. Circular Técnica, 48.

FEDERIZZI, L. C. A soja como fator de competitividade no mercosul: histórico, produção e perspectivas futuras. **CEPAN/UFRGS**, 2006. Disponível em: <<http://cdn.fee.tche.br/jornadas/2/E13-10.pdf>>. Acesso em 10 de abril de 2017.

FELIX, M. A.; BRAZACA, S. G. C.; MACHADO, F. M. V. F. Análise sensorial dos grãos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tostados por diferentes tratamentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** [online]. v.31, n.1, p. 56-64, 2011.

FERREIRA, A. L.; OLIVEIRA, A. J.; VON PINHO, R. V. E.; QUEIROZ, D. L. Bioestimulante e fertilizante associados ao tratamento de sementes de milho. **Rev. bras. sementes** [online]. v.29, n.2, p. 80-89, 2007.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; DEL PELOSO, M. J.; OLIVEIRA, J. P. Genótipos de feijoeiro comum sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 7, p. 649-656, 2011.

KHAN, W.; RAYIRATH, U.P.; SUBRAMANIAN, S.; JITHESH, M.N.; RAYORATH, P.; HODGES D.M. CRITCHLEY A.T.; CRAIGE J.S.; NORRIE J.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, Secaucus, v.28, p.386-399, 2009.

LANTMANN, A. **Efeitos da estiagem e do excesso de chuva na produtividade, 2016.** PROJETO SOJA BRASIL. Disponível em: <<http://www.projetosojabrasil.com.br/artigo-efeitos-da-estiagem-e-do-excesso-de-chuva-na-produtividade/>>. Acesso em: 12 de maio de 2017.

LANTMANN, A. **Tudo sobre o sistema de rotação de culturas com plantio direto, 2016.** PROJETO SOJA BRASIL. Disponível em: <<http://www.projetosojabrasil.com.br/tudo-sobre-o-sistema-de-rotacao-de-culturas-com-plantio-direto/>>. Acesso em: 20 de maio de 2017.

LENSEN, A. **Soybean response to drought.** Iowa State University, Department of Agronomy. Disponível em: <<http://crops.extension.iastate.edu/cropnews/2012/06/soybean-response-drought>>. Acesso em: 22 de abril de 2017.

LOSI, L. C. **Uso de *Ascophyllum nodosum* para o enraizamento de microestacas de eucalipto.** 2010. 84f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Júlio de Mesquita, Botucatu, 2010.

LUDWIG, M. P.; OLIVEIRA S; SCHUCH, B. O. L.; VERNETTI JUNIOR, J. F.; SEUS, R; CORRÊA, F. M.; NUNES, L. T. Produção de sementes de soja sobre solo de várzea alagada. **Revista de agricultura**, Piracicaba, v.90, n.1, p. 1-16, 2015.

MARIOT, E.; E., WEBER, O. L. D. S., SPADOTTO, C. A.; DORES, E. F. G. D. C. Uso do índice LIX na previsão de lixiviação dos pesticidas metolaclo, endossulfam, clorpirifós, carbendazim e diurom. **Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 19, p. 57-64, 2009.

MARTYNENKO, A., SHOTTON, K., ASTATKIE, T., PETRASH, G., FOWLER, C., NEILY, W.; CRITCHLEY, A. T. **Thermal imaging of soybean response to drought stress: the effect of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract.** SpringerPlus, v. 5, n. 1, p. 1, 2016. Acessado em 26 de maio 2017.

MENDONÇA, V. Z. **Consortiação de milho com forrageiras: produção de silagem e palha para plantio direto de soja.** 2012. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - UNESP, Ilha Solteira, 2012.

MERCANTE, M. F.; SILVA, F. R.; FRANCELINO, F. C. S.; CAVALHEIRO, T. J. C.; OTSUBO, A. A. Biomassa microbiana, em um Argissolo Vermelho, em diferentes, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.30, n.4, p. 479-485, 2008.

MÓGOR, A. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; MÓGOR, G. Aplicação foliar de extrato de alga, ácido L-glutâmico e cálcio em feijoeiro. **Scientia Agraria**. v. 9, p. 431-437, 2008.

MORANDO, R; SILVA, O. A.; CARVALHO, C. L.; PINHEIRO, P. M. A. M. Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.3, n. especial, p.114-129, 2014.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2ª edição atualizada e ampliada. Lavras: Editora UFLA, 2006. p. 729

MORENO, K. A. A. **Expressão de genes relacionados com a qualidade fisiológica de sementes de soja**. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 67p. 2016.

OLIVEIRA, V. C. **Atividade enzimática, população e análise de DNA da biodiversidade microbiana do solo em agroecossistemas do Semi-Árido**. 2004. 108f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2004.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Dinâmica das populações bacterianas em solos de Cerrados. **Pesq. agropec. bras.** [online]. v.34, n.5, p. 801-811, 1999.

PORTO, M. F.; SOARES, W. L. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. **Rev. bras. saúde ocup.** [online]. v.37, n.125, p. 17-31, 2012.

RAYIRATH, P.; BENKEL, B. F.; HODGES, D. M.; PRITHIVIRAJ, B. Lipophilic components of the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum*, enhance freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, v. 230, n. 1, p. 135-147, 2009.

REIS, E. F. dos; QUEIROZ, D. M. de; CUNHA, J. P. A. R. da; ALVES, S. M. F. Qualidade da aplicação aérea líquida com uma aeronave agrícola experimental na cultura da soja (*Glycine Max* L.). **Eng. Agríc.** [online]. v.30, n.5, p. 958-966, 2010.

ROSA, A. M. CLAVISO, J.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C. L. Alimentos fermentados à base de soja (*Glycine max* (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, 2009.

SAA, S.; OLIVOS-DEL RIO, A.; CASTRO, S.; BROWN, P. H. Foliar application of microbial and plant based biostimulants increases growth and potassium uptake in almond (*Prunus dulcis* [Mill.] DA Webb). **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 87, 2015.

SCHNEIDER, J. **Atributos microbiológicos de um Latossolo Bruno submetido a diferentes sistemas de manejo e calagem**. 2007. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – UDESC, Lages, 2007.

SCHUCH, B. O. L.; KOLCHINSKI, M. E.; FINATTO, J. A. Qualidade fisiológica da semente e desempenho de plantas isoladas em soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p.144-149, 2009.

SILVA, C. G. F. **Resposta espectral da cultura do feijão em condição de déficit hídrico**. 2015. 87f. Dissertação (Mestrado Agronomia / Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

SILVA, C. P.; LASCHI, D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; MOGOR, A. F. Aplicação foliar do extrato de alga *Ascophyllum nodosum* e do ácido glutâmico no desenvolvimento inicial de crisântemos (*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Kitam.) em vasos. **Revista brasileira de horticultura ornamental**, v. 16, n. 2, p. 179-181, 2010.

SILVA, E. E.; DE AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO_2)**. Embrapa Agrobiologia. 4p. 2007b. Comunicado Técnico, v. 99.

SILVA, E. E.; DE AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. **Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (BMS-C)**. Embrapa Agrobiologia. 6p. 2007a. Comunicado Técnico, v. 98.

SILVA, C. P. C. P.; GARCIA, K. G. V.; SILVA, R. M.; OLIVEIRA, L. A. A.; TOSTA, M. S. Desenvolvimento inicial de mudas de couve-folha em função do uso de extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 1, p. 7-11, 2012.

SILVA, E. R. **Exsudação radicular e sua utilização por rizobactérias**. Instituto Agrônomo Pós-Graduação Agricultura Tropical e Subtropical Dissertação - Campinas, SP, 2011. 52 p.

SILVEIRA, A. P. D.; FREITAS, S. dos S. **Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2007. 312 p.

SPANN, T. M.; LITTLE, H. A. Applications of a commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* increases drought tolerance in container-grown 'Hamlin' sweet orange nursery trees. **HortScience**, v.46, p. 577–582, 2011.

SPARLING, G. P.; WEST, A. W. A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration *in situ* using microbial respiration and ^{14}C labelled cells. **Soil biology and biochemistry**, v. 20, n. 3, p. 337-343, 1988.

SUGUISAWA, J. M.; FRANCO, F. N.; SILVA, S. S. S.; PECHE FILHO, A. Qualidade de aplicação de herbicida em lavoura de trigo. **Eng. Agríc.** [online]. v.27, n.spe, p. 41-47, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 722 p. 2004.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; VLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**, 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, Departamento de Solos, 174p. 1995.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSIN, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 19, n.6, p. 703-707, 1987.

VARGAS, L. K.; SCHOLLES, D. Biomassa microbiana e produção de C-CO₂ e N mineral de um podzólico vermelho-escuro submetido a diferentes sistemas de manejo. **Rev. Bras. Ciênc. Solo** [online], v.24, n.1, p. 35-42, 2000.

VENZKE FILHO, S. de P. **Biomassa microbiana do solo sob sistema de plantio direto na região de Campos Gerais, Tibagi, PR**. 2003. 114p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba 2003.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of chromic acid titration method. **Soil Science**, Baltimore, v. 37, p. 29-38, 1934.

XU, C.; LESKOVAR, D. I. Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. **Scientia Horticulturae**, v. 183, p. 39-47, 2015.