**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Suprimento de enxofre e o alívio do estresse causado pelo bário em capim
tanzânia**

Arnon Afonso de Souza Cardoso

Dissertação apresentada para obtenção
do título de Mestre em Ciências. Área
de concentração: Solos e Nutrição de
Plantas

**Piracicaba
2016**

Arnon Afonso de Souza Cardoso
Engenheiro Agrônomo

Suprimento de enxofre e o alívio do estresse causado pelo bário em capim tanzânia

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. **FRANCISCO ANTONIO MONTEIRO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Solos e
Nutrição de Plantas

Piracicaba
2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Cardoso, Arnon Afonso de Souza

Suprimento de enxofre e o alívio do estresse causado pelo bário em capim tanzânia / Arnon Afonso de Souza Cardoso. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.

117 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Ascorbato peroxidase 2. Catalase 3. Crescimento 4. Estado nutricional 5. Estresse oxidativo 6. Glutathione redutase 7. Guaiacol peroxidase 8. Índice SPAD 9. Malondialdeído 10. *Panicum maximum* 11. Peróxido de hidrogênio 12. Prolina 13. Sintomas de toxidez 14. Superóxido dismutase I. Título

CDD 633.2
C268s

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; à Universidade de São Paulo; ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas e ao Departamento de Ciência do Solo pela oportunidade e suporte oferecidos.

Ao Professor Dr. Francisco Antonio Monteiro pela orientação e auxílio na condução deste estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão de bolsa de estudos.

Aos colegas Ana Carolina Correr, Ellen Cristina Alves de Anicésio, Janine Mesquita Gonçalves, João Cardoso de Souza Junior, Juliana Zucolotto, Renata Mota Lupp e Roberta Corrêa Nogueirol pelo suporte na condução deste projeto.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Capim tanzânia	13
2.2 Bário	14
2.2.1 Características físico-químicas e comportamento no solo	14
2.2.2 Toxidez em plantas.....	15
2.2.3 Importância ambiental	16
2.3 Enxofre	17
2.3.1 Metabolismo do enxofre em plantas.....	17
2.3.2 Importância na tolerância ao estresse oxidativo	18
2.3.3 Importância do enxofre para o capim tanzânia.....	19
2.4 Importância do estado nutricional no potencial fitorremediador.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Material vegetal e condições experimentais	21
3.2 Avaliações de produção e mortalidade das plantas	22
3.3 Diagnose visual	22
3.4 Avaliação do estado nutricional	22
3.5 Avaliação do índice SPAD	23
3.6 Avaliação dos indicadores de estresse.....	23
3.6.1 Malondialdeído.....	23
3.6.2 Peróxido de hidrogênio.....	24
3.6.3 Prolina.....	24
3.7 Avaliação das enzimas do sistema antioxidante.....	24
3.7.1 Extração e quantificação de proteínas	24
3.7.2 Glutathione redutase	25
3.7.3 Superóxido dismutase.....	25
3.7.4 Catalase.....	25
3.7.5 Ascorbato peroxidase	26
3.7.6 Guaiacol peroxidase	26
3.8 Análise estatística	26

4 RESULTADOS.....	29
4.1 Produção e mortalidade das plantas	29
4.2 Sintomas visuais de toxidez de bário e deficiência de enxofre	36
4.3 Concentrações e acúmulos de nutrientes e bário	40
4.3.1 Bário.....	40
4.3.2 Enxofre.....	46
4.3.3 Potássio	52
4.3.4 Cálcio	56
4.3.5 Magnésio	60
4.3.6 Cobre.....	64
4.3.7 Ferro	68
4.3.8 Manganês	72
4.3.9 Zinco	77
4.4 Índice SPAD	81
4.5 Indicadores de estresse.....	84
4.5.1 Malondialdeído	84
4.5.2 Peróxido de hidrogênio	85
4.5.3 Prolina	86
4.6 Atividade das enzimas do sistema antioxidante.....	88
4.6.1 Glutathione redutase	88
4.6.2 Superóxido dismutase	90
4.6.3 Catalase	90
4.6.4 Ascorbato peroxidase.....	92
4.6.5 Guaiacol peroxidase.....	94
5 DISCUSSÃO	97
6 CONCLUSÕES	107
REFERÊNCIAS.....	109

RESUMO

Suprimento de enxofre e o alívio do estresse causado pelo bário em capim tanzânia

Elevada disponibilidade de bário (Ba) no meio de cultivo pode resultar em severa toxidez nas plantas. A toxidez causada pelo metal pesado nas plantas pode ser amenizada pelo fornecimento de nutrientes, particularmente o enxofre (S). Objetivou-se avaliar os parâmetros produtivos, sintomas visuais, estado nutricional, índice SPAD, indicadores de estresse (malondialdeído, peróxido de hidrogênio e prolina) e a atividade de enzimas do sistema antioxidante (glutaciona redutase, superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase e guaiacol peroxidase) do capim tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) cultivado com combinações de doses de S e de Ba na solução nutritiva, em casa de vegetação, em dois ciclos de crescimento das plantas. As plantas foram submetidas às combinações de cinco doses de S (0,1; 1,0; 1,9; 2,8 e 3,7 mmol L⁻¹) com cinco doses de Ba (0,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 mmol L⁻¹), utilizando esquema fatorial fracionado (5²), em blocos ao acaso, com seis repetições e seis plantas por unidade experimental. Os parâmetros produtivos e o estado nutricional das plantas foram severamente afetados pelas combinações de S e Ba em ambos os ciclos de crescimento. O aumento na dose de Ba na solução nutritiva prejudicou acentuadamente o crescimento e o estado nutricional das plantas, principalmente na área foliar, e nos nutrientes potássio e magnésio, enquanto o aumento da dose de S amenizou o efeito tóxico do metal. Maiores concentrações de malondialdeído foram observadas nas plantas que apresentaram maior acúmulo do metal pesado. As atividades das enzimas glutaciona redutase, catalase e ascorbato peroxidase foram mais altas nas plantas cultivadas com baixo fornecimento de S, enquanto a atividade da guaiacol peroxidase foi aumentada com incremento das doses de Ba e de S.

Palavras-chave: Ascorbato peroxidase; Catalase; Crescimento; Estado nutricional; Estresse oxidativo; Glutaciona redutase; Guaiacol peroxidase; Índice SPAD; Malondialdeído; *Panicum maximum*; Peróxido de hidrogênio; Prolina; Sintomas de toxidez; Superóxido dismutase

ABSTRACT

Sulfur supply and alleviation of the stress caused by barium in Tanzania guineagrass

High barium (Ba) availability in growth medium can cause severe toxicity in plants. Nutrient supply may mitigate heavy metal phytotoxicity, especially the sulphur (S) supply. The study was carried out to evaluate the plant growth, visual symptoms, nutritional status, indicators of stress (malondialdehyde, hydrogen peroxide and proline) and activities of the antioxidant enzymes (glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase) in Tanzania guineagrass (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzania) grown with combinations of S rates and Ba rates in nutrient solution, in a greenhouse, for two growth periods. Plants received nutrient solutions where combinations of five S rates (0.1, 1.0, 1.9, 2.8 and 3.7 mmol L⁻¹) with five Ba rates (0.0, 2.5, 5.0, 10.0 and 20.0 mmol L⁻¹) were used in a fractionated factorial (5²), in randomized block design, with six replications and six plants per experimental unit. Plant production and nutritional status were highly affected by combinations of S and Ba rates, in both growth periods. Increase on Ba rates impaired growth, mainly on leaf area production. Barium rates impaired nutritional status, mainly on potassium and calcium, while increasing on S rates alleviated Ba toxic effects. High concentrations of malondialdehyde was observed in plants with increase of Ba application. The activities of catalase and ascorbate peroxidase were high in plants grown with low S availability, while guaiacol peroxidase activity was enhanced by increasing Ba and S rates in the nutrient solution.

Keywords: Ascorbate peroxidase; Catalase; Glutathione reductase; Guaiacol peroxidase; Hydrogen peroxide; Malondialdehyde; Nutritional status; Oxidative stress; *Panicum maximum*; Plant growth; Proline; SPAD value; Superoxide dismutase; Toxicity symptoms

1 INTRODUÇÃO

A poluição ambiental é um grave problema nas regiões industrializadas do mundo, principalmente devido ao descarte inadequado de resíduos. Entre os tipos de poluentes, os metais pesados apresentam grande importância, pois representam alto risco para o ambiente e à saúde pública. O bário (Ba) é um metal pesado que apresenta toxidez para plantas e animais, os quais podem ser contaminados principalmente em áreas de extração mineral e prospecção de petróleo e gás, atividades que produzem como resíduo compostos com alto teor desse elemento.

Apesar de não ser nutriente para os vegetais, o Ba pode ser absorvido pelas plantas devido à sua similaridade química com os macronutrientes cálcio e magnésio. Essa similaridade aumenta o risco da ocorrência da toxidez aos humanos e outros animais, pois estes podem bioacumular o elemento tóxico ao ingerir plantas com alta concentração de Ba, o qual apresenta efeitos deletérios para diversos organismos. Por outro lado, tal similaridade também possibilita o uso da fitorremediação como estratégia para a recuperação de áreas contaminadas com Ba. A fitorremediação consiste na remoção pelas plantas de elementos tóxicos do solo, por meio da absorção do elemento e acumulação na biomassa (fitoextração) ou mesmo pela atenuação dos seus efeitos por materiais orgânicos exsudados pelas raízes (fitoestabilização).

Dentre as espécies que recentemente vem sendo estudadas para fitorremediação, estão as da família Poaceae ou Gramineae, objetivando aproveitar o rápido crescimento e alta produção de biomassa dessas plantas como fatores favoráveis na fitorremediação dos metais pesados. Estudos anteriores demonstraram que o capim tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) apresenta elevada resistência às altas concentrações de Ba, indicando que essa espécie é mais tolerante ao estresse causado por Ba que outras espécies expostas a esse elemento. Assim, o capim tanzânia apresenta interesse para estudos visando seu uso na fitorremediação de áreas contaminadas com Ba.

Além da resistência natural de algumas espécies vegetais ao estresse causado por metais pesados como o Ba, o estado nutricional também pode afetar a tolerância das plantas. No caso do estresse causado por Ba em plantas, alguns nutrientes, especialmente o enxofre (S), pode amenizar efeitos tóxicos do metal, de forma que, além das diversas funções básicas do S nas plantas, este nutriente também possui importância na tolerância ao estresse causado por metais pesados.

O efeito do S no alívio do estresse causado por metais pesados nas plantas deve-se principalmente à participação desse nutriente na constituição do aminoácido cisteína,

precursor da glutathione e das fitoquelatinas, moléculas importantes no sistema antioxidante das plantas; e também à regulação da atividade de enzimas do sistema antioxidante, as quais amenizam os efeitos do estresse oxidativo, efeito comumente causado por altas concentrações de metais pesados. No caso do estresse causado por Ba, o S atua como inibidor na absorção desse contaminante, e também diminui a toxidez através da precipitação do Ba na forma de sulfato de bário, principalmente nas raízes. Entretanto, são escassos estudos que investiguem o efeito do fornecimento de S na tolerância do capim tanzânia ao excesso de Ba.

Considerando que a disponibilidade do elemento no meio de cultivo regula a absorção de nutrientes e que o S pode influenciar a tolerância das plantas a metais pesados, é possível que sua aplicação aumente a tolerância das plantas ao Ba, incrementando a eficiência da fitorremediação desse elemento. Assim, objetiva-se avaliar a influência da aplicação do S na nutrição da planta e suas implicações na produção e na tolerância aos danos causados pelo excesso da disponibilidade de Ba no meio de cultivo do capim tanzânia.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Capim tanzânia

Os capins apresentam elevada importância econômica no Brasil e no mundo, devido principalmente à sua utilização em pastagens. As pastagens ocupam cerca de 3,5 bilhões de hectares no mundo, correspondendo a 26% da superfície terrestre e a 70% das áreas agriculturáveis (FAO, 2016a). O Brasil possui aproximadamente 196 milhões de hectares de pastagens, área que sustenta o rebanho de cerca de 213 milhões de bovinos e bubalinos (FAO, 2016b).

Dentre as diversas espécies de gramíneas do gênero *Panicum*, o capim tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) apresenta destaque pela elevada produção anual, que pode atingir 33 t ha⁻¹ de massa seca total e 26 t ha⁻¹ de massa seca de folhas, possuindo alta importância econômica, principalmente devido ao seu uso em larga escala na alimentação animal (SAVIDAN et al., 1990; SANTOS; COSTA, 2006). Devido ao seu alto potencial de produção de biomassa e rusticidade, o uso do capim tanzânia na extração de metais pesados também vem sendo estudado, pois essas características são importantes na escolha de plantas para essa finalidade (KELLER et al., 2003; KRÄMER, 2005; PILON-SMITS, 2005).

Experimentos com capim tanzânia, objetivando seu uso na fitorremediação, tem sido realizados para alguns contaminantes ambientais, como alumínio (ALMEIDA; MONTEIRO; JANK, 2000), bário (MONTEIRO et al., 2011), cádmio (RABELO, 2014) e cobre (GILABEL et al., 2014). No caso do Ba, os níveis tóxicos desse elemento para o capim tanzânia observados por Monteiro et al. (2011) indicam que essa espécie é mais tolerante ao elemento do que outras espécies como feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (LLUGANY et al., 2000), soja (*Glycine max* L.) (SUWA et al., 2008), girassol (*Helianthus annuus* L.), mostarda castanha (*Brassica juncea* L.), mamona (*Ricinus communis* L.) (COSCIONE; BERTON, 2009), milho (*Zea mays* L.) (NOGUEIRA et al., 2010) e arroz (*Oryza sativa* L.) (MAGALHÃES et al., 2011). Esses resultados indicam que o capim tanzânia apresenta interesse para estudos relativos ao seu uso na fitorremediação e tolerância aos metais pesados.

2.2 Bário

2.2.1 Características físico-químicas e comportamento no solo

O bário é elemento químico pertencente ao segundo grupo da tabela periódica (família II A), cujo símbolo químico é Ba. Este elemento possui número atômico de 56 e massa atômica de 137,3 (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY - IUPAC, 2013). O Ba é um metal alcalino terroso, divalente, que pode ocorrer em ampla faixa concentrações no ambiente. Geralmente as concentrações de Ba no ambiente variam de baixas a moderadas, porém elevadas concentrações podem ocorrer em alguns tipos de solos, depósitos de petróleo, depósitos de carvão e água do mar (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 1991; KRAVCHENKO et al., 2014). O Ba pode ser classificado como metal pesado, pois possui número atômico maior que 20 e está associado aos problemas de poluição (MARQUES et al., 2001), mesmo apresentando densidade de 3.510 kg m^{-3} (WHO, 1991), que é inferior a 5.000 kg m^{-3} , a densidade mínima também adotada como referência para a designação como “metal pesado” (MARQUES et al., 2001).

Geralmente, o Ba está presente em baixos teores no solo, ocorrendo naturalmente em rochas sedimentares e ígneas, nos feldspatos e nas micas (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA, 2007). O Ba pode formar compostos com diversos ânions, sendo o sulfato de bário (barita, BaSO_4) o composto mais comumente encontrado na natureza, seguido pelo carbonato de bário (BaCO_3) (WHO, 1991). Estes compostos são encontrados em depósitos subterrâneos e somados correspondem a apenas 0,05% da crosta terrestre (MALINA et al., 2004).

O Ba contido na barita é relativamente imóvel no solo, devido a baixa solubilidade em água deste composto ($2,47 \text{ mg L}^{-1}$, a 25°C), o que diminui a biodisponibilidade do elemento (MAGALHÃES et al., 2014). Contudo, em solos com potencial redox de aproximadamente -250 mV ocorre a redução do sulfato de bário a sulfeto de bário (MONNIN et al., 2001; JONES; INGLE, 2005; MAGALHÃES et al., 2011), composto de maior solubilidade que pode liberar mais facilmente o cátion Ba^{2+} , que é a forma iônica mais tóxica do metal às plantas (PHILLIPS et al., 2001).

O teor de Ba no solo varia entre aproximadamente $0,02$ e $2,4 \text{ g kg}^{-1}$ (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2010), podendo agir como substituto isomórfico de cálcio e potássio na formação de alguns minerais (VÁZQUEZ; ANTA, 2009). O cátion Ba^{2+} possui alta mobilidade no solo (MAGALHÃES et al., 2011; LIMA et al., 2012), podendo ser fracamente retido nas cargas negativas das argilas (ZHANG et al., 2001). A formação de complexos de

alta estabilidade entre o Ba^{2+} e argilas ou massa orgânica ainda não foram observadas (LAMB et al., 2013).

2.2.2 Toxidez em plantas

O Ba não possui função conhecida nas plantas. Entretanto, devido às semelhanças químicas entre o cátion Ba^{2+} e os cátions absorvidos dos nutrientes cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}), o Ba pode ser absorvido e bioacumulado nas plantas. No ambiente, as plantas geralmente apresentam Ba de 4 a 50 mg kg⁻¹ no tecido vegetal seco (CHAUDHRY et al., 1977). Por outro lado, quando a disponibilidade de Ba^{2+} é elevada, o metal pode ser absorvido em grandes quantidades e causar toxidez nas plantas (MAGALHÃES et al., 2011; MONTEIRO et al., 2011; MAGALHÃES et al., 2014). Contudo, a capacidade de bioacumular Ba em condições de estresse varia conforme a espécie vegetal (MELO et al., 2011). Além disso, quando a concentração de Ba é elevada, a disponibilidade de enxofre no solo é diminuída, devido à formação de sulfatos de baixa solubilidade (COSCIONE; BERTON, 2009). Ao ser absorvido pelas plantas, o Ba pode entrar na cadeia trófica, causando toxidez também aos animais vertebrados e invertebrados (KUPERMAN et al., 2006).

Os sintomas de toxidez de Ba nas plantas incluem a inibição do crescimento, havendo diminuição da produção de biomassa tanto na parte aérea quanto nas raízes, e o aparecimento de clorose e posterior necrose nas folhas (LLUGANY et al., 2000; SUWA et al., 2008; MONTEIRO et al., 2011; LIMA et al., 2012; MAGALHÃES et al., 2014), podendo esses sintomas e níveis tóxicos variar de acordo com a espécie vegetal. A absorção excessiva de Ba diminui o transporte de S das raízes para a parte aérea e de cálcio do caule para as folhas, enquanto a absorção de potássio é diminuída (LLUGANY et al., 2000).

Apesar de vários estudos relatarem toxidez causada por Ba em plantas, são raros trabalhos que investiguem a parte metabólica envolvida nessa toxidez, assim como são raros estudos sobre os mecanismos de tolerância ao estresse causado pelo Ba, principalmente do sistema antioxidante. Melo et al. (2011) verificaram que o Ba aumentou a atividade das enzimas do sistema antioxidante em soja (*Glycine max* L.) cultivada em dois tipos solos. Entretanto, o comportamento das plantas diferiu de acordo com o solo, demonstrando influência da dinâmica do Ba no solo e indicando que o cultivo em meio inerte, como a sílica, torna-se oportuno para o estudo dos efeitos isolados do Ba em plantas.

Nos seres humanos, a ingestão de elevadas quantidades de Ba pode causar hipocalcemia, hipertensão aguda, vômitos, diarreia, arritmia cardíaca, que podem resultar em morte (DALLAS; WILLIAMS, 2001; MALINA et al., 2004). Por esses motivos, o Ba está

incluído na lista de elementos perigosos da Agency for Toxic Substances and Disease Registry- ATSDR (ATSDR, 2016), além de possuir valores orientadores de qualidade do solo na legislação ambiental de diversos países (BIONDI et al., 2011). A importância do Ba para a saúde pública e ambiente tornam necessários conhecimentos sobre os métodos de recuperação de áreas contaminadas com esse elemento, onde o Ba pode causar fitotoxidez, entrando na cadeia trófica e constituindo risco aos animais.

2.2.3 Importância ambiental

O Ba apresenta importância ambiental devido ao fato de atividades de mineração, agrícolas e industriais produzirem resíduos contendo esse elemento, os quais podem contaminar solos e águas quando descartados inadequadamente. A barita é amplamente utilizada na indústria do petróleo e de gás, em fluidos de perfuração como agente de ponderação, neutralizando a pressão nas formações geológicas que estão sendo perfuradas (FAM et al., 2003; NEFF, 2008). Esses fluidos podem influenciar acentuadamente a concentração de Ba em resíduos de poços de petróleo (MELTON et al., 2000).

Sais solúveis contendo Ba, como acetato [$\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$], sulfeto (BaS), carbonato (BaCO_3), cloreto (BaCl_2), hidróxido [$\text{Ba}(\text{OH})_2$] e nitrato de bário [$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$] são amplamente aplicados na indústria e agricultura, utilizados em diversos produtos como aditivos de combustível, borracha, ligas de metal, cerâmicas, cimentos, componentes eletrônicos, corantes, explosivos, hastes de solda, medicamentos, óleos lubrificantes, peças automotivas, pesticidas e tecidos (RUSSELL, 1989; HERSKOVITZ, 2000; PICHTEL, 2000; CHOUDHURY; CARY, 2009; MALINA et al., 2004). Fertilizantes orgânicos também podem ter Ba em sua composição, de forma que seu uso excessivo e/ou contínuo, pode aumentar o teor de Ba disponível no solo, constituindo também em risco de contaminação ambiental pelo metal (NOGUEIRA et al., 2010).

Apesar de escassos, os estudos sobre o efeito do Ba no desenvolvimento das plantas demonstram sua fitotoxidez quando presente em concentrações elevadas no ambiente. No Brasil, os valores de alerta e intervenção do teor de Ba no solo são de 150 e 300 mg kg^{-1} , respectivamente (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA, 2009), sendo que alguns solos podem apresentar naturalmente teores muito mais elevados (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2010; PEREZ et al., 1997). Biondi et al. (2011) verificaram, em alguns solos brasileiros, teores naturais de Ba próximos ao nível de alerta, podendo inclusive exceder em muito 150 mg kg^{-1} . Essa situação pode ser agravada em áreas de descarte de óleo utilizado na extração de petróleo, o qual apresenta alta concentração de

sulfato de bário (POZEBON et al., 2005), que, apesar de ser pouco solúvel, pode liberar Ba^{2+} em ambientes redutores (MAGALHÃES et al., 2011, 2012, 2014), aumentando a disponibilidade de Ba e o risco de danos ecológicos e à saúde humana.

2.3 Enxofre

2.3.1 Metabolismo do enxofre em plantas

A essencialidade do enxofre (S) às plantas foi relatada por Julius von Sachs e Wilhelm Knop, por volta de 1865 (MARSCHNER, 1995), sendo esse elemento constituinte dos aminoácidos metionina e cisteína, que somados contém aproximadamente 90% do S na planta (MENGEL; KIRKBY, 2000). Esses aminoácidos são precursores de moléculas importantes, como coenzimas, biotina, tiamina e ferredoxina (DROUX, 2004; HAVLIN et al., 2005) e metabólicos secundários, como glutatona, tioredoxina, fitoquelatinas, glucosinolatos e aliinas (MARSCHNER, 1995; SAITO, 2004).

O S também está presente nas membranas celulares dos cloroplastos como constituinte dos sulfolipídeos. Moléculas contendo S são ativadores enzimáticos em diversos processos metabólicos relacionados principalmente ao metabolismo do nitrogênio (N) (KOPRIVA; RENNENBERG, 2004), como na atividade da enzima nitrato redutase. A forma de S preferencialmente absorvida pelas raízes é o sulfato (SO_4^{2-}), o qual é absorvido ativamente, após contato com as raízes predominantemente pelo mecanismo de fluxo de massa (MARSCHNER, 1995). Entretanto, o S também pode ser absorvido nas formas orgânicas (cisteína e metionina) e tiosulfato (MALAVOLTA, 1980). As folhas podem absorver dióxido de enxofre (SO_2) e outros gases sulfurosos, apenas em baixas quantidades, pois o SO_2 em concentrações elevadas causa fitotoxidez (HAVLIN et al., 2005).

Depois de absorvido, o sulfato é transportado via xilema das raízes para as folhas (LARSSON et al., 1991). Nas folhas, o sulfato é reduzido até a formação do aminoácido cisteína ($C_3H_7NO_2S$), processo que requer energia (HELL, 1997). A cisteína é o primeiro composto sulfurado estável na assimilação do S, sendo precursor dos demais aminoácidos e compostos sulfurados (MARSCHNER, 1995). Posteriormente, os compostos sulfurados podem ser translocados das folhas de origem para folhas novas, ramos, caules e raízes, através do xilema e floema, principalmente como glutatona (HERSCHBACH; RENNENBERG, 1995). Contudo, a capacidade das plantas de redistribuir o S utilizado nas folhas velhas é baixa, motivo pelo qual os sintomas visuais de deficiência ocorrem primeiro nas folhas novas, e o mais comum é a clorose uniforme no limbo foliar (MARSCHNER, 1995; EPSTEIN;

BLOOM, 2006). As concentrações de S adequadas ao crescimento das plantas variam de 1 a 5 g kg⁻¹ de massa seca, dependendo da espécie, estágio de desenvolvimento e órgão vegetativo considerado (MARSCHNER, 1995).

2.3.2 Importância na tolerância ao estresse oxidativo

Além das funções comuns a todas as plantas, o metabolismo do S também está relacionado com a capacidade de algumas em tolerar o estresse causado por metais pesados (ANDRA et al., 2009; SCHULZ et al., 2008; FERNANDÉZ et al., 2014), incluindo o Ba (WANG, 1988). Dessa forma, o S também desempenha importante papel no aumento do potencial fitorremediador de diversas plantas, devido sua participação na constituição de moléculas relacionadas ao alívio do estresse em plantas (INOUE, 2005). O S aumenta a tolerância de plantas a alguns metais pesados, principalmente por ser um dos constituintes da cisteína, o qual é o precursor básico da síntese das fitoquelatinas (BLOCK et al., 1992), que complexam metais em plantas e microrganismos (KINNERSLEY, 1993; INOUE, 2005).

A formação de fitoquelatinas é importante estratégia para o aumento da resistência das plantas “hiperacumuladoras” a diversos contaminantes, como arsênio (BATISTA et al., 2014), cádmio (FERNANDÉZ et al., 2014), chumbo (FISCHER et al., 2014), cobre (MACHADO-ESTRADA et al., 2013), mercúrio (SPISSO et al., 2014), níquel (GAWEL et al., 2001) e zinco (KLECKEROVA et al., 2011). Andra et al. (2009) atribuíram a alta tolerância da gramínea *Vetiveria zizanioides* L. ao chumbo à produção de quatro tipos de fitoquelatinas. De forma semelhante, Schulz et al. (2008) também identificaram a produção de fitoquelatinas como estratégia para a alta tolerância ao arsênio em azevém (*Lolium perenne* L.) e capim-de-ponta (*Agropyron repens* (L.) P. Beauv.), correlacionando a maior resistência destas gramíneas à produção de fitoquelatinas com comprimentos de cadeia específicos, quando comparadas a outras espécies de plantas.

Leão et al. (2014) observaram aumento na absorção do sulfato e na atividade da enzima sulfúrilase (primeira enzima na via de assimilação do sulfato) em plantas de lentilha d'água (*Lemna gibba* L.) mediante a exposição ao arsênio. Consequentemente, as plantas apresentaram maiores concentrações de compostos contendo S envolvidos na desintoxicação celular, tal como a glutatona, unidade estrutural das fitoquelatinas (ZHANG et al., 2012). Assim, a capacidade das plantas em absorver, assimilar e metabolizar o S pode exercer papel importante para a tolerância ao estresse oxidativo desencadeado por metais pesados. No entanto, são escassos trabalhos que investiguem a influência do fornecimento de S em plantas expostas ao estresse causado por Ba.

2.3.3 Importância do enxofre para o capim tanzânia

O fornecimento de S influencia o crescimento e a morfologia do capim tanzânia, havendo sensível aumento na produção de massa seca e no perfilhamento das plantas quando é satisfeito o requerimento por esse nutriente (MONTEIRO; CARRIEL, 1987; SCHMIDT; MONTEIRO, 2014). Schmidt e Monteiro (2014) verificaram limitação no número de folhas, área foliar e no comprimento das raízes do capim tanzânia cultivado em baixa disponibilidade de S, assim como maior proporção de massa seca das raízes em relação à parte aérea, que provavelmente constitui estratégia do capim tanzânia para aumentar a absorção de S em condições de baixa disponibilidade do nutriente.

Schmidt, De Bona e Monteiro (2013) obtiveram máximo crescimento do capim tanzânia mediante o fornecimento de S de $1,26 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução nutritiva, cujas concentrações de S correspondentes nas folhas recém-expandidas foram de aproximadamente 0,6 e $1,0 \text{ g kg}^{-1}$ de massa, aos 35 e 65 dias após o transplante, respectivamente. Esses autores constataram também o aumento na concentração de aminoácidos livres nas plantas cultivadas com baixas concentrações de S na solução, indicando que a limitação deste nutriente causa desbalanço no metabolismo do nitrogênio no capim tanzânia.

Rabelo (2014) verificou que o fornecimento de S atenuou a taxa de mortalidade de perfilhos e diminuiu a concentração de cádmio no capim tanzânia mediante a exposição ao metal. Também constatou o aumento na atividade da enzima ascorbato peroxidase em função da elevação da disponibilidade de S. O efeito positivo do S no crescimento do capim tanzânia indica que o S pode influenciar o potencial desse capim como planta extratora de contaminantes, pois ele aumenta a produção de biomassa, característica requerida nas plantas fitorremediadoras. Considerando que o S desempenha funções na resistência das plantas ao estresse causado por contaminantes, existe a possibilidade de o S aumentar a tolerância do capim tanzânia ao estresse causado por metais, como o Ba.

2.4 Importância do estado nutricional no potencial fitorremediador

Estudos recentes vem demonstrando que o estado nutricional das plantas também pode afetar a tolerância aos metais pesados (LEÃO et al., 2014), de forma que plantas nutridas adequadamente podem apresentar maior tolerância ao estresse causado pela presença de elementos tóxicos no meio de cultivo. O efeito amenizador dos nutrientes no estresse de contaminantes em plantas tem sido relatado em diversos estudos. Monsanto et al. (2010) demonstraram que o nitrogênio fornecido na forma de nitrato aumenta o potencial fitorremediador de zinco da espécie *Noccaea caerulescens* (J. Presl & C. Presl) F. K. Mey.

De forma semelhante, Juang et al. (2014) observaram que o aumento no fornecimento de magnésio evita o aparecimento dos sintomas de toxidez causados pelo cobre em videira (*Vitis vinifera* L. var. Kyoho). Gomes et al. (2013) relataram que o suprimento de fósforo melhora o potencial fitorremediador de arsênio em *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg., por meio do alívio do estresse oxidativo causado pelo metal. Entretanto, Klaber e Barker (2014) não observaram efeito positivo do fósforo na fitorremediação de arsênio nas gramíneas *Leersia oryzoides* Sw. e *Festuca arundinacea* Schreb.

Esses estudos demonstram que a aplicação de nutrientes é uma técnica promissora para o aumento do potencial fitorremediador das espécies. Todavia, mostram também que efeitos positivos da aplicação dos nutrientes são específicos quanto ao nutriente, ao contaminante e à espécie vegetal. São raros estudos sobre a influência do fornecimento de nutrientes na fitotoxidez causada por Ba. No entanto, existem relatos sobre atenuação da fitotoxidez do Ba por cálcio e magnésio, pela diminuição de sua absorção por inibição competitiva (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2010), assim como é relatada a inibição não competitiva (precipitação) da absorção de Ba causada por S (WANG, 1988).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando o capim tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia), cultivado no período de primavera-verão. Foram estudadas as combinações resultantes de cinco doses de S (0,1; 1,0; 1,9; 2,8 e 3,7 mmol L⁻¹) com cinco doses de Ba (0,0; 2,5; 5,0; 10,0, e 20,0 mmol L⁻¹), em conformidade com o esquema fatorial fracionado (5²) descrito por Littell e Mott (1975). Assim, foram estudadas treze combinações de doses de S com doses de Ba: 0,1/0,0; 0,1/5,0; 0,1/20,0; 1,0/2,5; 1,0/10; 1,9/0,0; 1,9/5,0; 1,9/20,0; 2,8/2,5; 2,8/10,0; 3,7/0,0; 3,7/5,0 e 3,7/20,0 mmol L⁻¹ de S e Ba, respectivamente.

Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso, com seis repetições e cada unidade experimental foi constituída por um vaso com seis plantas. Foram utilizadas três repetições para as avaliações de produção, mortalidade, estado nutricional e índice SPAD das plantas e as outras três para as avaliações de indicadores de estresse e atividade das enzimas do sistema antioxidante. As sementes foram germinadas em bandejas plásticas contendo areia lavada em água corrente e água desionizada. Foram transplantadas 15 mudas para cada vaso plástico, com capacidade para 3,6 L, contendo quartzo moído (sílica) como substrato. Quando as plântulas atingiram 4,0 cm de altura foram realizados desbastes periódicos até permanecerem seis plantas por vaso.

O experimento foi conduzido para obtenção de dois cortes nas plantas, sendo os mesmos determinados pelo aparecimento de sintomas severos de toxidez. Os cortes foram realizados aos 29 (primeiro) e 51 dias (segundo) após o transplântio. No momento do transplântio, os vasos receberam 2,1 L da solução nutritiva completa proposta por Hoagland e Arnon (1950), diluída a 20% da sua força iônica e com concentração de S reduzida para 0,1 mmol L⁻¹, a qual foi mantida nos vasos por sete dias. Em seguida, os vasos receberam 2,1 L dessa solução nutritiva com 100% de força iônica, ajustada para atender as doses de S, durante 14 dias. Após esse período, os vasos receberam 2,1 L dessa solução nutritiva com 100% de força iônica, sem o fornecimento de S e com a aplicação das doses de Ba por oito dias. Os fornecimentos de Ba e S foram feitos separadamente para evitar a precipitação desses elementos na forma de sulfato de bário.

Após o primeiro corte das plantas, foram fornecidos 2,1 L de solução nutritiva completa com 100% de força iônica, com as concentrações de S de acordo com as doses estudadas, por 14 dias, e em seguida aplicou-se o mesmo volume de solução nutritiva com

100% de força iônica, sem o fornecimento de S e com a aplicação das doses de Ba por oito dias. Para haver aeração adequada do sistema radicular, as soluções foram circuladas no mínimo quatro vezes ao dia e drenadas à noite. O volume de solução foi completado diariamente, pela manhã, com água desionizada.

No momento dos cortes, as plantas foram divididas em lâminas recém-expandidas (primeira e segunda folhas totalmente expandidas, no sentido do ápice para a base das plantas), demais lâminas e colmos e bainhas. Após o segundo corte também foram coletadas as raízes, com auxílio de peneira com 1,0 mm de abertura. As partes das plantas destinadas às avaliações de produção e do estado nutricional foram acondicionadas em sacos de papel e colocados em estufa com ventilação forçada à 65 °C, até a obtenção de massa constante. As partes das plantas destinadas às avaliações dos indicadores de estresse e da atividade das enzimas do sistema antioxidante foram acondicionadas em papel alumínio e congeladas em nitrogênio líquido imediatamente após os cortes, e em seguida foram armazenadas em freezer a -80 °C.

3.2 Avaliações de produção e mortalidade das plantas

As plantas destinadas às avaliações produção tiveram as folhas e perfilhos contados imediatamente antes de cada corte. A área foliar das plantas também foi determinada imediatamente após cada corte, com uso do medidor de área foliar LI-3000. O material vegetal seco foi pesado em balança digital para determinação da produção de massa seca da parte aérea, massa das lâminas recém-expandidas, massa seca das demais lâminas, massa seca dos colmos e bainhas e massa seca das raízes. Aos quinze dias após o primeiro corte, foram contadas as plantas mortas, para determinação da taxa de mortalidade.

3.3 Diagnose visual

No decorrer do experimento foram registrados e fotografados os principais sintomas de toxidez de Ba, deficiência de S, suprimento adequado de S e efeito do suprimento de S na toxidez de Ba, principalmente nas lâminas foliares e colmos e no crescimento das plantas.

3.4 Avaliação do estado nutricional

Foram determinadas as concentrações e calculados os acúmulos de bário (Ba), enxofre (S), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) na massa seca das lâminas recém-expandidas, demais lâminas, colmos e bainhas, e das raízes das plantas. As amostras secas foram moídas em moinho tipo Willey e digeridas

utilizando ácido nítrico e ácido perclórico em bloco digestor e os extratos obtidos foram utilizados para a determinação das concentrações de nutrientes e Ba. A concentração de S foi determinada por meio de turbidimetria (SARRUGE; HAAG, 1974). A concentração de Ba foi determinada por meio de espectrometria de emissão ótica em plasma induzido (ICP-OES). A concentração de K foi determinada por fotometria de chama e as concentrações de Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn foram obtidas por espectrofotometria de absorção atômica. As concentrações de N e P não foram determinadas por escassez de material vegetal. Considerando as concentrações dos elementos analisados e a quantidade de massa seca das partes das plantas foram calculados os acúmulos de nutrientes e Ba na massa seca das lâminas recém-expandidas, demais lâminas, colmos e bainhas, e nas raízes das plantas.

3.5 Avaliação do índice SPAD

A avaliação indireta da concentração de clorofila (índice SPAD) foi realizada com auxílio do clorofilômetro Chlorophyll Meter SPAD-502 (MINOLTA CAMERA, 1989). A avaliação foi realizada na segunda folha completamente expandida (no sentido do ápice para a base da planta), no terço médio da lâmina, antes da realização do primeiro e do segundo corte das plantas. O valor para cada unidade experimental foi obtido pela média de dez leituras realizadas nas plantas de cada vaso, conforme descrito por Santos (1997).

3.6 Avaliação dos indicadores de estresse

3.6.1 Malondialdeído

A determinação da concentração de malondialdeído foi realizada de acordo com o método descrito por Calmak e Horst (1991). A massa de 0,2 g de tecido vegetal fresco das parcelas foi macerada em nitrogênio líquido e homogeneizada em 3 mL de solução de 1,0 g L⁻¹ de ácido tricloroacético com aproximadamente 30 mg de polivilpirrolidona (PVPP). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, 0,25 mL do sobrenadante foi adicionado a 1,0 mL de solução de 200 g L⁻¹ de ácido tricloroacético e 5 g L⁻¹ de ácido tiobarbitúrico. Essa mistura foi aquecida a 95 °C por 30 minutos e em seguida foi resfriada em banho de gelo. Após o resfriamento, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A concentração de malondialdeído foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹ e os resultados foram expressos em nmol g⁻¹ de massa fresca.

3.6.2 Peróxido de hidrogênio

A determinação da concentração de peróxido de hidrogênio foi realizada conforme Alexieva et al. (2001). Misturou-se 0,2 mL do sobrenadante obtido para a determinação da concentração de malondialdeído a 0,8 mL de solução de 1 mol L⁻¹ de iodeto de potássio e 0,2 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,5). Essa mistura foi mantida no gelo e no escuro por uma hora. Após esse período foi realizada leitura em espectrofotômetro a 390 nm. As concentrações de peróxido de hidrogênio foram calculadas com base em curva padrão e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa fresca.

3.6.3 Prolina

A concentração de prolina nas plantas foi determinada de acordo com Bates et al. (1973). Foram macerados 0,2 g de material vegetal fresco em 10 mL de solução de 30 g L⁻¹ de ácido sulfossalicílico. Após 20 minutos de centrifugação (10.000 rpm a 15°C), o sobrenadante foi misturado com solução de 2,5 g L⁻¹ de ninidrina ácida e foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 520 nm. As concentrações de prolina foram calculadas com base em curva padrão e os resultados foram expressos em nmol g⁻¹ de massa fresca.

3.7 Avaliação das enzimas do sistema antioxidante

3.7.1 Extração e quantificação de proteínas

O material vegetal fresco foi macerado em nitrogênio líquido até completa formação de pó e homogeneizado em solução de tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,5) acrescido de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 1 mmol L⁻¹ e ditiotreitol 3 mmol L⁻¹. Foram homogeneizados 1,0 g de amostra das lâminas recém-expandidas, demais lâminas ou colmos e bainhas em 3 mL desse tampão e 1,0 g de amostra das raízes em 2 mL desse tampão. Foi adicionado aproximadamente 0,04 g de PVPP no momento da homogeneização. O extrato resultante foi centrifugado durante 30 minutos (10.000 rpm a 4 °C). Após esse período, o sobrenadante do extrato proteico foi armazenado em freezer -80 °C até o momento das análises das enzimas do sistema antioxidante. A determinação de proteínas foi realizada no sobrenadante, conforme Bradford (1976), no qual 20 μL do extrato proteico foram homogeneizados com 1,0 mL de reagente de Bradford. A solução foi deixada em temperatura ambiente por cinco minutos e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm. As concentrações de proteína solúvel foram calculadas a partir de curva padrão e os resultados expressos em mg mL⁻¹ de solução.

3.7.2 Glutationa redutase

A atividade da glutathione redutase foi determinada conforme Azevedo et al. (1998), em meio de reação contendo 1,7 mL de solução de 1 mmol L⁻¹ de ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzóico); 1 mmol L⁻¹ de glutathione oxidada, 0,1 mmol L⁻¹ de fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH) e 50 µL de extrato proteico. A taxa de redução da glutathione oxidada foi monitorada pela mudança na absorbância do meio de reação, em espectrofotômetro a 412 nm por 60 segundos. Os resultados da atividade da glutathione redutase foram expressos em µmol min⁻¹ mg de proteína⁻¹.

3.7.3 Superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase em gel de poliacrilamida em sistema não desnaturante (PAGE) a 12% foi determinada utilizando 30 µg de proteínas do extrato proteico, através de separação eletroforética em placas de vidro a 20 mA, por aproximadamente 3 horas, de acordo com Laemmli (1970). A revelação do gel foi realizada conforme Azevedo et al. (1998). O gel foi lavado em água desionizada e, posteriormente, incubado à temperatura ambiente, no escuro em solução tampão fosfato de potássio a 50 mmol L⁻¹ (pH 7,8); 1 mmol L⁻¹ de EDTA; 0,05 mmol L⁻¹ de riboflavina; 0,1 mmol L⁻¹ de nitroazul de tetrazólio e 3 g L⁻¹ de tetrametiletilenodiamina. Após o período de incubação do gel, a mistura de reação foi removida, os géis foram lavados em água desionizada e submetidos à iluminação fluorescente por alguns minutos até o aparecimento de bandas brancas sob fundo roxo. Para ocorrer a fixação das bandas, os géis foram imersos em solução de 70 ml L⁻¹ de ácido acético por 15 minutos, e posteriormente sua imagem foi digitalizada.

3.7.4 Catalase

A atividade de catalase foi determinada conforme método proposto por Kraus et al. (1995), e modificado por Azevedo et al. (1998). O meio de reação recebeu 1 mL de solução de 30 mmol L⁻¹ de peróxido de hidrogênio em tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,5). A reação foi iniciada pela adição de 25 µL do extrato proteico e a atividade determinada em espectrofotômetro seguindo-se a decomposição do peróxido de hidrogênio em intervalos de 10 segundos durante 1 minuto, na absorbância de 240 nm. A atividade da catalase foi calculada utilizando o coeficiente de extinção do peróxido de hidrogênio de 39,4 mM⁻¹ cm⁻¹ e os resultados foram expressos em µmol min⁻¹ mg de proteína⁻¹.

3.7.5 Ascorbato peroxidase

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada conforme Cakmak e Horst (1991). O meio de reação foi composto por 50 μL de extrato proteico e 850 μL de solução tampão de fosfato de potássio 0,1 mol L^{-1} (pH 7,5) contendo 5 mmol L^{-1} de ascorbato e 1 mmol L^{-1} de EDTA. A mistura foi mantida em banho maria a 30 °C até o momento das leituras. No momento da leitura, foram adicionados 100 μL de solução 1 mmol L^{-1} de peróxido de hidrogênio. Após 1 minuto da adição do peróxido, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 290 nm. A atividade da ascorbato peroxidase foi calculada utilizando o coeficiente de extinção do ascorbato de 2,8 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ e os resultados foram expressos em $\text{nmol L}^{-1} \text{min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$.

3.7.6 Guaiacol peroxidase

A determinação da atividade do guaiacol peroxidase foi baseada na metodologia proposta por Matsuno e Uritani (1972). O meio de reação foi composto por 780 μL de tampão fosfato-citrato (0,2 mol L^{-1} de fosfato de sódio dibásico e 0,1 mol L^{-1} de ácido cítrico, pH 5,0), 50 μL de solução 5 g L^{-1} de guaiacol (dissolvido em tampão fosfato-citrato) e 20 μL do extrato proteico. A mistura foi homogeneizada em agitador tipo vortex por alguns segundos, e em seguida recebeu a adição de 50 μL de solução de 3 g L^{-1} de peróxido de hidrogênio. A mistura foi novamente homogeneizada e incubada em banho maria a 30 °C por 15 minutos. Após a incubação, a mistura recebeu a adição de 50 μL de solução de 20 g L^{-1} de metabissulfito de sódio e foi mantida em banho de gelo por 10 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 450 nm. Os resultados da atividade da guaiacol peroxidase foram expressos em unidades da enzima (U), onde o aumento de 0,001 na absorbância das amostras correspondeu a 1 $\text{U min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$.

3.8 Análise estatística

Os resultados foram digitados em planilhas eletrônicas e as análises estatísticas executadas com auxílio do programa SAS (SAS, 2000). Nos resultados coletados no primeiro corte, foi realizada análise de superfície de resposta das variáveis em função das combinações das doses de S e Ba, considerando a significância e o coeficiente de determinação (R^2) dos modelos, e a significância da falta de ajuste dos resultados (lack of fit). Quando os resultados não se ajustaram a modelos de superfície de resposta, foram realizadas análises de variância para as doses de S e Ba separadamente. Os símbolos (*) e (**) nas equações de regressão indicam os níveis de significância de 5 e 1%, respectivamente. A elevada mortalidade das

plantas inviabilizou as análises estatísticas nos resultados coletados no segundo corte, apresentando-se as médias das combinações de S e Ba das plantas sobreviventes e seus desvios-padrão.

4 RESULTADOS

4.1 Produção e mortalidade das plantas

A produção de massa da parte aérea, das lâminas recém-expandidas, das demais lâminas e dos colmos e bainhas das plantas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo quadrático de superfície de resposta ($p < 0,01$). Por outro lado, a produção de massa seca das raízes não se ajustou a modelos de superfície de resposta e não foi afetada pelas doses de S e Ba isoladamente ($p > 0,05$). A produção média de massa seca das raízes foi de 10,49 g por unidade experimental.

As doses de S aumentaram a produção de massa da parte aérea, das lâminas recém-expandidas e demais lâminas, principalmente na ausência de fornecimento de Ba, enquanto as doses de Ba diminuíram essas variáveis de produção, principalmente quando combinadas com doses de S maiores do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figuras 1 e 2).

Dessa forma, as maiores produções de massa seca das lâminas recém-expandidas e demais lâminas foram obtidas na combinação de S de 3,7 mmol L⁻¹ com a ausência de Ba na solução nutritiva, enquanto as menores produções dessas variáveis foram observadas com o fornecimento de S de 0,1 mmol L⁻¹, independentemente da dose de Ba testada.

A elevação das doses de S aumentou a produção de massa seca dos colmos e bainhas, porém, também houve aumento dessa variável mediante o fornecimento de Ba quando combinado com doses de S são mais elevadas do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figura 2B). Assim, a produção de massa seca dos colmos e bainhas foi maior na combinação de S de 2,8 mmol L⁻¹ com Ba de 10,0 mmol L⁻¹ e foi menor no fornecimento de S de 0,1 mmol L⁻¹ independentemente da dose de Ba estudada.

O número de perfilhos, o número de folhas e a área foliar das plantas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo quadrático de superfície de resposta ($p < 0,01$). A resposta do número de perfilhos assemelhou-se à observada na massa seca dos colmos e bainhas, enquanto a resposta das plantas em número de folhas e área foliar foram similares às respostas observadas na massa seca das lâminas recém-expandidas e demais lâminas.

MSPA (g/vaso)

$$y = 5,917 + 12,166^{**}S - 2,134^{**}S^2 - 0,1751Ba + 0,004Ba^2 - 0,0270SBa$$

$R^2 = 0,71$ (A)

LR (g/vaso)

$$y = 2,232 + 4,067^{**}S - 0,696^{**}S^2 - 0,052Ba + 0,0013Ba^2 - 0,028SBa$$

$R^2 = 0,68$ (B)

Figura 1 - Massa seca da parte aérea (A) e massa seca das lâminas recém-expandidas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

DL (g/vaso)

$$y = 2,168 + 3,569^{**}S - 0,588^{**}S^2 - 0,179Ba + 0,0059Ba^2 - 0,015SBa$$

$R^2 = 0,72$ (A)

CB (g/vaso)

$$CB = 1,517 + 4,529^{**}S + 0,056Ba - 0,850S^{2**} + 0,015SBa - 0,00271Ba^2$$

$R^2 = 0,59$ (B)

Figura 2 - Massa seca das demais lâminas (A) e massa seca dos colmos e bainhas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Assim, quando se elevou a dose de S na solução nutritiva, houve aumento da produção de perfilhos, independentemente da dose de Ba aplicada, enquanto as doses de Ba incrementaram essa variável quando foi fornecido S em dose maior do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figura 3). A maior produção de perfilhos foi observada na combinação de dose de S de 2,8 mmol L⁻¹ com a de Ba de 10,0 mmol L⁻¹, e as menores produções foram observadas na aplicação de S de 0,1 mmol L⁻¹, independentemente da dose de Ba testada.

Figura 3 - Número de perfilhos do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

As doses de S aumentaram o número de folhas e a área foliar das plantas no primeiro corte, independentemente da dose de Ba testada. Por outro lado, as doses de Ba inibiram o aumento nessas variáveis quando fornecidas doses de S maiores do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figura 4). O fornecimento de S de 3,7 mmol L⁻¹ combinada com a ausência de Ba na solução nutritiva proporcionou maior número de folhas e área foliar, enquanto o fornecimento de S de 0,1 mmol L⁻¹ resultou no menor número de folhas e área foliar das plantas, independentemente da dose de Ba aplicada.

Figura 4 - Número de folhas (A) e área foliar (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Os resultados da taxa de mortalidade das plantas após o primeiro corte ajustaram-se ao modelo da superfície de resposta ($p < 0,01$). O aumento das doses de Ba incrementou a mortalidade das plantas em todas as doses de S aplicadas (Figura 5). Entretanto, a aplicação do metal mostrou-se mais tóxica quando combinada com doses de S maiores do que $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$. As plantas cultivadas com dose de Ba de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ combinada com dose de S de $2,8 \text{ mmol L}^{-1}$ não rebrotaram após o primeiro corte, resultando na morte de todas as plantas.

As plantas cultivadas com dose de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$ também apresentaram taxa de mortalidade de 100%, independentemente da dose de S fornecida. As doses de S diminuíram a mortalidade das plantas cultivadas com dose de Ba de $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, diminuindo também a mortalidade das plantas cultivadas com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ sem a aplicação do metal, as quais apresentaram mortalidade de aproximadamente 50%, mesmo sem o fornecimento de Ba. Todas as plantas cultivadas com doses de S de 1,9 e $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem Ba na solução nutritiva rebrotaram e sobreviveram após o primeiro corte.

$$y = 44,482 - 19,510S + 3,052S^2 + 9,845^{**}Ba - 0,364^{**}Ba^2 + 0,599SBa$$

$$R^2 = 0,56$$

Figura 5 - Mortalidade do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, quinze dias após o primeiro corte

No segundo corte observou-se diminuição da produção de massa seca da parte aérea, das lâminas recém-expandidas, das demais lâminas e dos colmos e bainhas mediante o aumento das doses de Ba, enquanto as doses de S aumentaram a produção de massa seca nessas partes das plantas em todas as doses de Ba (Tabela 1). O efeito negativo do Ba foi mais severo nas plantas cultivadas com doses de S mais elevadas, de forma que o aumento da dose de Ba de 0,0 para 5,0 mmol L⁻¹ resultou em menor produção de massa seca da lâminas recém-expandidas e demais lâminas em aproximadamente 50% quando em combinação com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹, e foi menor em aproximadamente 70% quando combinado com dose de S de 3,7 mmol L⁻¹.

Tabela 1 - Produção de massa seca da parte aérea (MSPA), das lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas±

S	Ba	MSPA dp*	LR dp	DL dp	CB dp
----- mmol L ⁻¹ -----					
				g/vaso	
	0,0 ²	4,41 ±1,16	1,00 ±0,25	0,85 ±0,25	2,47 ±1,66
0,1	5,0 ²	4,35 ±0,81	0,49 ±0,06	0,37 ±0,13	3,40 ±0,87
	20,0	- -	- -	- -	- -
1,0	2,5 ²	51,66 ±14,52	9,04 ±1,71	16,22 ±5,06	26,30 ±7,74
	10,0 ²	23,06 ±11,40	5,91 ±1,41	3,51 ±4,43	13,55 ±5,56
	0,0 ³	65,28 ±15,13	13,77 ±3,77	22,93 ±6,29	28,48 ±5,66
1,9	5,0 ¹	45,82 -	5,01 -	7,04 -	33,67 -
	20,0	- -	- -	- -	- -
2,8	2,5 ²	31,67 ±32,25	7,02 ±7,77	10,65 ±10,80	13,91 ±13,68
	10,0	-	-	-	-
	0,0 ³	93,50 ±7,18	18,78 ±1,87	28,51 ±2,30	46,11 ±5,41
3,7	5,0 ²	22,71 ±12,42	5,88 ±3,80	7,20 ±6,49	9,54 ±2,13
	20,0	- -	- -	- -	- -

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

O número de perfilhos na ocasião segundo corte não foi afetado pelas doses de Ba, enquanto as doses de S aumentaram essa variável apenas em relação à aplicação de 0,1 mmol L⁻¹ do nutriente (Tabela 2). Todavia, houve redução no número de folhas e na área foliar em função das doses de Ba, principalmente nas doses de S mais elevadas. Por outro lado, as doses de S resultaram em aumentos nesses parâmetros, mais acentuadamente na ausência de Ba na solução nutritiva.

Tabela 2 - Número de perfilhos, número de folhas e área foliar do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	Perfilhos	dp	Folhas	dp	AF	dp
----- mmol L ⁻¹ -----						----- m ² -----	
0,1	0,0 ²	5,60	±2,12	22,10	±4,24	0,30	±0,11
	5,0 ²	4,60	±0,71	28,10	±2,83	0,11	±0,06
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	22,60	±7,78	143,10	±57,98	3,97	±1,03
	10,0 ²	17,60	±3,54	62,60	14,85	1,58	0,28
1,9	0,0 ³	21,10	±3,46	159,77	±1,53	6,00	±0,87
	5,0 ¹	18,10	-	111,10	-	2,72	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	13,10	±8,49	99,10	±84,85	3,01	±3,25
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	24,10	±3,46	180,43	±31,07	7,49	±0,22
	5,0 ²	20,10	±15,56	73,60	±36,06	2,02	±1,28
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.2 Sintomas visuais de toxidez de bário e deficiência de enxofre

Aos quinze dias após o transplântio, iniciou-se o aparecimento de vários sintomas visuais, que variaram quanto ao momento do aparecimento, as características e a severidade em função das combinações de doses de S e de Ba na solução nutritiva. Naquela ocasião, as plantas cultivadas com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ começaram a apresentar clorose generalizada nas lâminas recém-expandidas, independentemente da dose de Ba na solução nutritiva, enquanto as plantas cultivadas com as doses de S de 1,9 e 3,7 mmol L⁻¹ apresentaram coloração normal (Figuras 6A e 6B). Por outro lado, as folhas maduras das plantas cultivadas com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ não apresentaram clorose durante o primeiro crescimento (Figura 6C).

Aos cinco dias após a primeira exposição das plantas às doses de Ba, as plantas cultivadas com a presença desse metal na solução nutritiva começaram a apresentar clorose internerval nas lâminas de folhas maduras, principalmente naquelas das doses de Ba de 10,0 e 20,0 mmol L⁻¹, independentemente da dose de S aplicada. Todavia, aos doze dias após a adição do metal os sintomas evoluíram e se agravaram. Naquele momento, verificou-se que a clorose internerval das folhas maduras chegou a coalescer em alguns pontos (Figura 6D), apresentando necrose nos ápices da lâmina foliar. Além disso, as plantas cultivadas com dose de Ba de 10,0 e 20,0 mmol L⁻¹ passaram a exibir pontos necróticos também nos colmos (Figuras 6E e 6F) e, paralelamente, as lâminas de folhas recém-expandidas apresentaram clorose internerval em fase inicial.

Figura 6 - Sintomas de deficiência de enxofre e toxidez de bário no capim tanzânia, aos 33 dias após o transplântio. A) Lâmina de folha recém-expandida de planta cultivada com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem adição de Ba. B) Lâmina de folha recém-expandida sem clorose de planta cultivada com doses de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem adição de Ba. C) Lâmina de folha recém-expandida com clorose (I) e lâmina de folha madura sem clorose (II) em planta cultivada com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$. D) Lâmina de folha madura cultivada com dose de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$. E) Colmos (indicados pelas setas) de plantas cultivadas com dose de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$. F) Colmos sem pontos necróticos de plantas com S dose de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem adição de Ba

Após o primeiro corte, verificou-se que as plantas cultivadas com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ sem a presença de Ba apresentaram rebrotação lenta e tardia (Figura 7A), enquanto as crescidas com as doses de S de $1,9$ e $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ sem a adição do metal rebrotaram rápida e vigorosamente (Figura 7B). Todas as plantas cultivadas com dose de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$, independentemente da dose de S na solução nutritiva não rebrotaram (Figuras 7C e 7D), assim como as cultivadas com a combinação de dose de S de $2,8 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Algumas das plantas desenvolvidas com a combinação de dose de S de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$, apesar de visivelmente debilitadas, conseguiram rebrotar. Todas as plantas que não rebrotaram começaram a apresentar processo avançado de necrose nos colmos e morreram aproximadamente quinze dias após o primeiro corte.

Figura 7 - Sintomas de deficiência de enxofre e toxidez de bário no capim tanzânia, aos sete dias após o primeiro corte. A) Plantas cultivadas com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem adição de Ba. B) Plantas cultivadas com dose de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem adição de Ba. C) Plantas cultivadas com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$. D) Plantas cultivadas com dose de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$

Durante o segundo crescimento, notou-se que as plantas cultivadas com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ exibiram clorose generalizada também nas folhas maduras (Figura 8A), diferentemente do observado no primeiro crescimento, quando apenas as lâminas de folhas recém-expandidas exibiram esse sintoma. Nas plantas crescidas com Ba na solução nutritiva, observou-se novamente o aparecimento de clorose internerval, principalmente nas folhas maduras (Figuras 8B e 8C). As plantas cultivadas com dose de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e de S de $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ passaram a exibir clorose generalizada nas lâminas de folhas recém-expandidas (Figura 8D), enquanto que as plantas crescidas com dose de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ não apresentaram esse sintoma (Figura 8E).

Figura 8 - Sintomas de deficiência de enxofre e toxidez de bário no capim tanzânia, aos 28 dias após o primeiro corte. A) Lâmina de folha madura (I) e lâmina de folha recém-expandida (II) de planta com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. B) Lâmina de folha madura de planta com dose de S de $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. C) Lâmina de folha madura de planta com dose de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. D) Lâmina de folha madura (I) e lâmina de folha recém-expandida (II) de planta com dose de S de $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. E) Lâmina de folha madura (I) e lâmina de folha recém-expandida (II) de planta com dose de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

4.3 Concentrações e acúmulos de nutrientes e bário

4.3.1 Bário

A concentração de Ba nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas das plantas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). A concentração desse metal nas raízes também ajustou-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$).

As doses de Ba e S aumentaram a concentração do metal nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas das plantas no primeiro corte (Figuras 9 e 10). Esses aumentos foram maiores quando se aplicou Ba a partir de 5,0 mmol L⁻¹, combinado com doses de S acima do que 1,0 mmol L⁻¹. Nas raízes também houve aumento da concentração de Ba mediante incremento nas doses dos elementos testados na solução nutritiva, todavia, a elevação da concentração do metal nesse tecido foi mais pronunciada na aplicação de doses do metal a partir de 10,0 mmol L⁻¹, também combinada com doses de S mais elevadas do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figura 11).

Figura 9 - Concentração de bário nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

$$y = -0,233 - 0,078S + 0,061S^2 + 0,589^{**}Ba - 0,0220^{**}Ba^2 - 0,012SBa$$

$$R^2 = 0,82 \text{ (A)}$$

$$y = 0,110 - 0,109S + 0,080S^2 + 0,540^{**}Ba - 0,0201^{**}Ba^2 - 0,020SBa$$

$$R^2 = 0,54 \text{ (B)}$$

Figura 10 - Concentração de bário nas demais lâminas (A) e colmos e bainhas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 11 - Concentração de bário nas raízes do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva

No segundo corte, também foi observado aumento da concentração de Ba nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas mediante o aumento das doses de Ba na solução nutritiva (Tabela 3). Contudo, nota-se que a concentração de Ba nesses tecidos aumentou desde a aplicação de Ba de 2,5 mmol L⁻¹, independentemente da dose de S, exceto a concentração nos colmos e bainhas, a qual só aumentou mediante as doses de Ba quando combinadas com doses de S de 3,7 mmol L⁻¹.

Os resultados de acúmulo de Ba nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas das plantas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). O acúmulo de Ba nas raízes também ajustou-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,05$). As doses de Ba e de S proporcionaram o acúmulo do metal nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas das plantas no primeiro corte (Figuras 12 e 13). Os incrementos no acúmulo do metal foram mais acentuados nas doses de Ba maiores do que 5,0 mmol L⁻¹, combinadas com doses de S mais elevadas do que 1,0 mmol L⁻¹. Nas raízes o aumento do acúmulo de Ba tornou-se marcante a partir da aplicação de Ba de 2,5 mmol L⁻¹, principalmente quando fornecida dose de S maior do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figura 14).

Tabela 3 - Concentração de bário nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----					g kg ⁻¹		
0,1	0,0 ^{/2}	0,066	±0,075	0,004	±0,561	0,063	±0,031
	5,0 ^{/2}	1,217	±1,574	-	-	0,061	±0,028
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ^{/2}	2,860	±1,062	1,007	±0,132	0,854	±1,150
	10,0 ^{/2}	2,222	±0,957	3,091	±0,453	0,532	±0,640
1,9	0,0 ^{/3}	0,076	±0,019	-	-	0,061	±0,012
	5,0 ^{/1}	3,134	-	-	-	0,047	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ^{/2}	1,666	±0,138	-	-	0,037	±0,014
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ^{/3}	0,042	±0,004	0,050	±0,025	0,032	±0,044
	5,0 ^{/2}	2,982	±0,907	2,537	±0,763	3,038	±1,780
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Ba (mg/vaso)

$$y = - 3,445 + 7,165^{**}S - 1,488^{*}S^2 + 2,761^{**}Ba - 0,122^{**}Ba^2 + 0,052SBa$$

$R^2 = 0,64$

Figura 12 - Acúmulo de bário nas lâminas recém-expandidas (A) e demais lâminas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Ba (mg/vaso)

$$y = -3,178 + 2,833S - 0,455S^2 + 2,635^{**}Ba - 0,188^{*}Ba^2 + 0,050SBa$$

$R^2 = 0,80$ (A)

Ba (mg/vaso)

$$Ba (CB) = -2,391 + 4,854S - 0,929S^2 + 2,861^{**}Ba - 0,123^{**}Ba^2 + 0,097SBa$$

$R^2 = 0,45$ (B)

Figura 13 - Acúmulo de bário nas demais lâminas (A) e colmos e bainhas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 14 - Acúmulo de bário nas raízes do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva

No segundo corte, também houve aumento do acúmulo de Ba nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas em função da elevação das doses de S e de Ba na solução nutritiva (Tabela 4). No entanto, ocorreu menor acúmulo de Ba nos tecidos quando se elevou a dose do metal de 2,5 para 10,0 mmol L⁻¹ na aplicação de dose de S de 1,0 mmol L⁻¹.

Tabela 4 - Acúmulo de bário nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- mg/vaso -----					
0,1	0,0 ²	0,16	±0,03	0,07	±0,01	0,13	±0,03
	5,0 ²	0,54	±0,69	-	-	0,22	±0,15
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	26,76	±14,50	18,05	±0,07	26,90	±16,86
	10,0 ²	13,79	±8,78	9,84	±12,09	8,99	±11,63
1,9	0,0 ³	1,00	±0,10	1,39	0,06	5,20	±7,32
	5,0 ¹	15,70	-	-	-	1,59	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	1,70	±2,26	-	-	0,62	±0,71
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	0,80	±0,14	1,45	±0,72	1,60	±0,54
	5,0 ²	15,80	±6,00	20,74	±21,96	30,86	±23,44
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.2 Enxofre

As concentrações de S nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas, nos colmos e bainhas e nas raízes das plantas ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta no momento do primeiro corte ($p < 0,01$).

Os aumentos das doses de Ba e de S elevaram a concentração de S nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas das plantas no primeiro corte (Figuras 15 e 16). Os incrementos nessas concentrações foram maiores quando se aplicou dose de Ba a partir de 5,0 mmol L⁻¹, combinada com doses de S maiores do que 1,0 mmol L⁻¹. Na ausência do emprego de Ba na aplicação de dose de Ba de 2,5 mmol L⁻¹, a concentração de S não foi afetada marcadamente pelas doses desse nutriente. Nas raízes observou-se efeito semelhante ao identificado nos tecidos da parte aérea, com a concentração de S aumentando mediante o fornecimento das doses de Ba e de S. Novamente, não foi observado aumento da concentração de S mediante as doses desse nutriente quando não se aplicou Ba, sendo a concentração desse metal maior quando se combinaram doses de Ba e de S mais elevadas do que 2,5 e 1,0 mmol L⁻¹, respectivamente (Figura 17).

Figura 15 - Concentração de enxofre nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

$$y = 0,319 + 0,024S - 0,003S^2 + 0,014Ba - 0,0005Ba^2 + 0,002SBa$$

$$R^2 = 0,37 \text{ (A)}$$

$$y = 0,182 + 0,097S - 0,019S^2 + 0,068Ba - 0,0030Ba^2 + 0,005SBa$$

$$R^2 = 0,47 \text{ (B)}$$

Figura 16 - Concentração de enxofre nas demais lâminas (A) e nos colmos e bainhas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 17 - Concentração de enxofre nas raízes do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva

No segundo corte, também foi observado aumento na concentração de S nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas conforme o aumento das doses de Ba na solução nutritiva, enquanto as doses de S aumentaram a concentração do nutriente, embora o incremento tenha sido mais marcante apenas nas lâminas recém-expandidas (Tabela 5). Em relação às demais lâminas, as doses de S resultaram em menor concentração do nutriente, enquanto nos colmos e bainhas o efeito não foi claro.

As maiores concentrações de S nas lâminas recém-expandidas das plantas foram obtidas em doses de Ba a partir de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ combinadas com doses de S mais elevadas do que $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Nas demais lâminas e nos colmos e bainhas as mais altas concentrações do nutriente foram observadas na combinação de dose de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Tabela 5 - Concentração de enxofre nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----				----- g kg ⁻¹ -----			
	0,0 ²	0,323	±0,001	0,723	±0,198	0,374	±0,045
0,1	5,0 ²	0,702	±0,125	1,041	±0,072	0,700	±0,029
	20,0	-	-	-	-	-	-
	2,5 ²	0,341	±0,004	0,340	±0,084	0,326	±0,014
1,0	10,0 ²	0,709	±0,016	0,374	±0,227	0,670	±0,172
	0,0 ³	0,471	±0,062	0,542	±0,308	0,437	±0,112
1,9	5,0 ¹	0,724	-	0,234	-	0,534	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
	2,5 ²	0,449	±0,084	0,405	±0,027	0,637	±0,202
2,8	10,0	-	-	-	-	-	-
	0,0 ³	0,575	±0,060	0,692	±0,147	0,588	±0,040
3,7	5,0 ²	0,456	±0,036	0,336	±0,095	0,655	±0,457
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Assim como observado nas concentrações de S nos tecidos da parte aérea e nas raízes, os resultados de acúmulos do nutriente também ajustaram-se a modelo de superfície de resposta no primeiro corte nas plantas, tanto nas lâminas recém-expandidas, quanto nas demais lâminas e nos colmos e bainhas ($p < 0,01$), bem como nas raízes.

As doses de Ba e de S aumentaram o acúmulo de S nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas quando combinaram-se doses de Ba mais elevadas do que 5,0 mmol L⁻¹ e dose de S maior do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figuras 18 e 19). O acúmulo de S nos colmos e bainhas não foi afetado pelas doses de S na ausência de Ba e também na aplicação de dose de 2,5 mmol L⁻¹ do metal (Figura 19).

De forma semelhante, o acúmulo de S nas raízes das plantas também foi aumentado pelos fornecimentos de doses de Ba e de S na solução nutritiva (Figura 20). Todavia, o efeito das doses de Ba foi pronunciado no acúmulo de S apenas nas doses mais altas do metal (10,0 e 20,0 mmol L⁻¹), quando combinadas com doses de S maiores do que de 1,0 mmol L⁻¹. Assim, o maior acúmulo de S nas raízes foi observado nas plantas cultivadas com dose de Ba de 20,0 mmol L⁻¹ combinada com dose de S de 3,7 mmol L⁻¹. Observou-se também que o acúmulo de S nesse tecido não aumentou marcadamente com as doses desse nutriente quando o Ba não foi fornecido.

S (mg/vaso)

$$y = 0,283 + 1,746^{**}S - 0,296^{*}S^2 + 0,165Ba - 0,006Ba^2 - 0,004SBa$$

$R^2 = 0,53$ (A)

S (mg/vaso)

$$y = 0,657 + 1,380^{**}S - 0,218^{*}S^2 - 0,015Ba - 0,001Ba^2 - 0,007SBa$$

$R^2 = 0,62$ (B)

Figura 18 - Acúmulo de enxofre nas lâminas recém-expandidas (A) e demais lâminas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 19 - Acúmulo de enxofre nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 20 - Acúmulo de enxofre nas raízes do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva

Por outro lado, no segundo corte observou-se resposta no acúmulo de S nos tecidos da parte aérea diferente do verificado no primeiro corte. Na época do segundo corte, houve menor acúmulo de S nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas com a elevação das doses de Ba, enquanto as doses de S permaneceram aumentando os acúmulos desse nutriente (Tabela 6).

Assim, os maiores acúmulos de S nesses tecidos foram observados nas plantas cultivadas com dose de S de 3,7 mmol L⁻¹, na ausência de Ba na solução nutritiva. Os menores acúmulos de S nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e também nos colmos e bainhas foram observados na combinação de dose de Ba de 5,0 mmol L⁻¹ com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹.

Tabela 6 - Acúmulo de enxofre nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----				mg/vaso			
	0,0 ²	0,32	±0,08	0,64	±0,35	0,88	±0,51
0,1	5,0 ²	0,34	±0,02	0,38	±0,11	2,39	±0,71
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	3,08	±0,54	5,73	±3,08	8,63	±2,90
	10,0 ²	4,20	±1,09	1,81	±2,45	8,60	±1,40
	0,0 ³	6,64	±2,76	13,28	±8,54	12,09	±2,14
1,9	5,0 ¹	3,63	-	1,65	-	17,99	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	3,47	±4,07	4,16	±4,08	7,47	±5,90
	10,0	-	-	-	-	-	-
	0,0 ³	10,79	±1,50	19,56	±3,31	27,09	±3,62
3,7	5,0 ²	2,61	±1,52	2,73	±2,87	5,76	±2,96
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.3 Potássio

Os resultados de concentrações de K nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte não se ajustaram a modelos de superfície de resposta e não foram significativamente alterados pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). A média da concentração de K nas lâminas recém-expandidas foi de 12,79 g kg⁻¹ de massa seca.

A concentração média de K nas demais lâminas foi de 17,57 g kg⁻¹ de massa seca enquanto nos colmos e bainhas foi de 21,94 g kg⁻¹. Semelhantemente, a concentração de K nas raízes também não se ajustou ao modelo de superfície de resposta e não foi influenciada pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). Nas raízes, a concentração média de K foi de 2,67 g kg⁻¹ de massa seca.

No segundo corte, observou-se aumento da concentração de K nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas mediante as doses de Ba, exceto quando combinadas com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹, enquanto as doses de S resultaram em mais baixa concentração desse nutriente (Tabela 7).

Tabela 7 - Concentração de potássio nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----					g kg ⁻¹		
0,1	0,0 ²	25,20	±5,94	15,00	±4,98	15,22	±2,22
	5,0 ²	19,88	±6,28	19,63	±18,19	13,12	±5,19
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	9,45	±0,01	13,12	±0,74	16,27	±3,71
	10,0 ²	17,85	±7,42	21,52	±3,71	20,47	±2,22
1,9	0,0 ³	10,15	±0,60	12,95	±5,78	12,25	±1,60
	5,0 ¹	23,10	-	25,20	-	11,55	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	12,60	±8,91	13,12	±2,22	21,00	±8,91
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	5,95	±0,60	8,40	±2,10	8,05	±1,21
	5,0 ²	17,32	±5,19	16,27	±8,16	21,00	±1,48
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Os acúmulos de K nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). Por outro lado, o acúmulo de K nas raízes não se ajustou ao modelo de superfície de resposta e não foi influenciado pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$).

As doses de Ba proporcionaram aumento no acúmulo de K nas lâminas recém-expandidas apenas quando combinadas com dose de S de 1,0 mmol L⁻¹. Por outro lado, as doses de S resultaram em incremento no acúmulo de K nesse tecido em todas as doses de Ba (Figura 21A).

Em relação ao acúmulo de K nas demais lâminas, as doses de Ba resultaram em menor acúmulo do nutriente, principalmente quando o S foi aplicado em dose maior do que 1,0 mmol L⁻¹, enquanto as doses de S aumentaram o acúmulo desse nutriente, principalmente quando combinadas com dose de Ba menor do que 5,0 mmol L⁻¹ (Figura 21B).

O acúmulo de K nos colmos e bainhas foi incrementado pelas doses de Ba quando combinadas com S maiores do que 1,9 mmol L⁻¹, enquanto as doses de S aumentaram o acúmulo de K nesse tecido em todas as doses de Ba, porém mais acentuadamente quando o Ba foi aplicado em dose maior do que acima de 5,0 mmol L⁻¹ (Figura 22).

K (mg/vaso)

$$y = 26,932 + 47,022^{**}S - 9,355^{**}S^2 + 1,671Ba - 0,092Ba^2 + 0,010SBa$$

$R^2 = 0,45$ (A)

S (mmol L⁻¹)
K (mg/vaso)

$$y = 35,861 + 66,932^{**}S - 13,059^{**}S^2 - 2,363Ba + 0,072Ba^2 - 0,076SBa$$

$R^2 = 0,62$ (B)

Figura 21 - Acúmulo de potássio nas lâminas recém-expandidas (A) e demais lâminas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 22 - Acúmulo de potássio nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte, houve menor acúmulo de K nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas com a elevação das doses de Ba, enquanto as doses de S proporcionaram diferença no acúmulo de K quando se compara a aplicação de dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ com as demais doses (Tabela 8). Assim, os maiores acúmulos de K nos tecidos da parte aérea no segundo corte foram observados com o fornecimento de S em dose maior do que 1,0 mmol L⁻¹ e na ausência de Ba na solução nutritiva.

Tabela 8 - Acúmulo de potássio nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- mg/vaso -----					
0,1	0,0 ²	25,81	±12,15	13,39	±8,05	35,68	±19,81
	5,0 ²	9,84	±4,31	6,11	±4,23	46,82	±29,06
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	85,43	±16,17	214,77	±78,49	413,58	±28,40
	10,0 ²	100,18	18,72	67,34	±82,25	283,53	±144,11
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,9	0,0 ³	140,57	±43,64	272,74	±52,03	343,15	±32,95
	5,0 ¹	115,73	-	177,41	-	388,89	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	53,77	±35,42	127,69	±118,01	231,05	±163,45
	10,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	111,46	±13,00	238,85	±56,80	368,39	±39,95
	5,0 ²	91,92	±35,25	90,67	±46,84	201,82	±58,85
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.4 Cálcio

Os resultados da concentração de Ca nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas coletadas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). Por outro lado, a concentração de Ca nos colmos e bainhas no primeiro corte e nas raízes não se ajustaram ao modelo de superfície de resposta e não foi alterada isoladamente pelas doses de Ba e de S ($p > 0,05$). As médias das concentrações de Ca nos colmos e bainhas e nas raízes foram de 3,75 e 2,68 g kg⁻¹ de massa seca, respectivamente.

As doses de Ba e de S proporcionaram menores concentrações de Ca nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas (Figuras 23 e 24), de forma que as maiores concentrações de Ca nesses tecidos foram obtidas nas plantas cultivadas com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ na ausência de Ba na solução nutritiva.

Figura 23 - Concentração de cálcio nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 24 - Concentração de cálcio nas demais lâminas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte não houve influência das doses de Ba nas concentrações de Ca nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e colmos e bainhas. Todavia, as doses de S resultaram em menor concentração desse nutriente nesses tecidos quando combinadas com a aplicação de Ba de 5,0 mmol L⁻¹ (Tabela 9).

Tabela 9 - Concentração de cálcio nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----					g kg ⁻¹		
0,1	0,0 ²	4,81	±0,84	5,50	±0,34	4,98	±0,02
	5,0 ²	6,59	±2,16	7,11	±3,11	9,95	±0,70
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	4,99	±0,72	3,50	±0,65	3,35	±0,32
	10,0 ²	3,96	±0,58	3,43	±0,69	3,27	±0,22
1,9	0,0 ³	4,36	±0,69	7,30	±2,42	4,33	±0,25
	5,0 ¹	5,38	-	4,23	-	4,80	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	3,72	±0,56	7,38	±0,00	4,41	±0,29
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	3,56	±0,10	5,41	±1,84	3,29	±0,38
	5,0 ²	3,98	±0,65	3,25	±0,50	3,46	±0,12
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Os acúmulos de Ca nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$), enquanto o acúmulo de Ca nas raízes não se ajustou ao modelo de superfície de resposta e não foi significativamente alterado pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$).

As doses de Ba proporcionaram menor acúmulo de Ca nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas, principalmente quando aplicada dose de S maior do que $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figuras 25 e 26). Por outro lado, as doses de S resultaram em maior acúmulo de Ca nesses tecidos, mais acentuadamente quando combinadas com doses de Ba menores do que $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Dessa forma, os maiores acúmulos de Ca foram obtidos no fornecimento de dose de S mais elevada do que $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ sem adição de Ba na solução nutritiva, enquanto os menores foram observados nas plantas cultivadas com a combinação da dose de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com doses de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. O acúmulo de Ca nos colmos e bainhas foi incrementado pelas doses de Ba e de S, principalmente nas combinações doses de Ba maiores do que $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com doses de S mais elevadas do que $2,8 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 26B).

Figura 25 - Acúmulo de cálcio nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Ca (mg/vaso)

$$y = 12,622 + 12,777**S - 2,013*S^2 - 1,045*Ba + 0,050*Ba^2 - 0,092SBa$$

$R^2 = 0,63$ (A)

Ca (mg/vaso)

$$y = 2,863 + 19,288**S - 3,828*S^2 + 0,361Ba - 0,003Ba^2 - 0,061SBa$$

$R^2 = 0,40$ (B)

Figura 26 - Acúmulo de cálcio nas demais lâminas (A) e nos colmos e bainhas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte, houve diminuição dos acúmulos de Ca nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas mediante as doses de Ba, enquanto as doses de S apresentaram aumento nesses acúmulos (Tabela 10).

Tabela 10 - Acúmulo de cálcio nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- mg/vaso -----					
	0,0 ²	4,68	±0,35	4,63	±1,11	12,25	±8,21
0,1	5,0 ²	3,13	±0,63	2,43	±0,25	34,08	±11,03
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	44,53	±2,07	58,47	±28,29	86,90	±17,42
	10,0 ²	23,78	±9,02	13,56	±17,59	44,87	±21,16
	0,0 ³	60,04	±18,19	160,26	±46,71	122,34	±17,76
1,9	5,0 ¹	26,95	-	29,74	-	161,48	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	28,31	±32,89	78,59	±79,73	63,36	±34,46
	10,0	-	-	-	-	-	-
	0,0 ³	67,01	±8,39	153,13	±47,84	151,30	±18,25
3,7	5,0 ²	24,60	±18,90	25,02	±24,69	32,90	±6,26
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.5 Magnésio

Os resultados da concentração de Mg nas lâminas recém-expandidas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). Contudo, as concentrações de Mg nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no momento do primeiro corte e a concentração do nutriente nas raízes não se ajustaram ao modelo de superfície de resposta e não foram significativamente afetadas pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). As médias das concentrações de Mg nas demais lâminas e nos colmos e bainhas foram de 3,69 e 6,58 g kg⁻¹ de massa seca, respectivamente, enquanto essa média nas raízes foi de 1,42 g kg⁻¹.

A concentração de Mg nas lâminas recém-expandidas foi aumentada pelas doses de Ba somente quando na presença da dose de S de 0,1 mmol L⁻¹, enquanto o fornecimento das doses de S resultou em menor concentração de Mg nesse tecido quando o Ba foi aplicado em dose maior do que 5,0 mmol L⁻¹ (Figura 27). Assim, a maior concentração de Mg nas lâminas recém-expandidas foi observada nas plantas cultivadas com dose de Ba de 20 mmol L⁻¹ e de S de 0,1 mmol L⁻¹.

Figura 27 - Concentração de magnésio nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No material vegetal do segundo corte, as doses de Ba proporcionaram aumento na concentração de Mg nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas (Tabela 11). Por outro lado, as doses de S resultaram em menor concentração de Mg nos tecidos da parte aérea das plantas, independentemente da dose de Ba fornecida.

Tabela 11 - Concentração de magnésio nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- g kg ⁻¹ -----					
0,1	0,0 ²	5,44	±0,45	5,93	±1,06	7,14	±0,84
	5,0 ²	7,15	±2,02	6,97	±1,37	8,10	±0,42
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	3,15	±1,03	3,55	±0,25	8,35	±2,77
	10,0 ²	4,23	±0,24	3,68	0,94	6,96	±2,18
1,9	0,0 ³	3,15	±0,62	4,66	±1,19	4,94	±0,27
	5,0 ¹	6,37	-	5,29	-	5,90	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	3,26	±1,20	3,82	±0,13	6,35	±1,39
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	1,92	±0,34	3,53	±0,50	3,93	±0,24
	5,0 ²	4,57	±0,45	3,20	±0,67	7,45	±1,10
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Os acúmulos de Mg nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$), enquanto o acúmulo de Mg nas raízes não se ajustou ao modelo de superfície de resposta e não foi significativamente alterado pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$).

As doses de Ba resultaram em menor acúmulo de Mg nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas, principalmente quando o S foi aplicado em dose maior do que $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figuras 28 e 29). Por outro lado, as doses de S aumentaram os acúmulos de Mg nesses tecidos, principalmente quando aplicadas juntamente com doses de Ba menores do que $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Os maiores acúmulos de Mg nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas no primeiro corte foram obtidos com o fornecimento de dose de S maior do que $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem adição de Ba na solução nutritiva, enquanto os menores foram observados nas plantas cultivadas com a aplicação de S na dose de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$, independentemente da dose de Ba aplicada. Porém, o acúmulo de Mg nos colmos e bainhas foi incrementado pelas doses de Ba e de S, principalmente nas combinações de doses de Ba mais elevadas do que $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com dose de S maior do que de $2,8 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 29B).

Figura 28 - Acúmulo de magnésio nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Mg (mg/vaso)

$$y = 8,602 + 13,465^{**}S - 2,204^{**}S^2 - 1,230 \cdot Ba + 0,050 \cdot Ba^2SBa$$

$R^2 = 0,65$ (A)

Mg (mg/vaso)

$$y = 7,162 + 29,672^{**}S - 5,782^{**}S^2 + 1,641Ba - 0,079Ba^2SBa$$

$R^2 = 0,55$ (B)

Figura 29 - Acúmulo de magnésio nas demais lâminas (A) e nos colmos e bainhas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte, observou-se menores acúmulos de Mg nas demais lâminas e nos colmos e bainhas mediante as doses de Ba, enquanto não houve efeito do metal na concentração de Mg nas lâminas recém-expandidas (Tabela 12). Paralelamente, as doses de S aumentaram os acúmulos de Mg nos tecidos da parte aérea no segundo corte, porém, observa-se efeito marcante do S apenas quando se compara a aplicação de S de 0,1 mmol L⁻¹ com as demais doses do nutriente.

Tabela 12 - Acúmulo de magnésio nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- mg/vaso -----					
0,1	0,0 ²	5,35	±0,90	5,18	±2,41	18,30	±13,94
	5,0 ²	3,40	±0,53	2,49	±0,38	27,33	±5,63
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	27,63	±3,91	56,89	±13,82	208,77	±8,25
	10,0 ²	25,12	±7,36	14,99	±19,58	100,37	±68,31
1,9	0,0 ³	42,96	±11,13	102,18	±14,97	141,36	±34,68
	5,0 ¹	31,91	-	37,23	-	198,57	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	18,25	±16,98	39,99	±39,91	78,77	±67,53
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	36,25	±8,46	99,88	±6,71	180,70	±13,38
	5,0 ²	26,02	±14,72	20,84	±15,93	69,83	±5,35
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.6 Cobre

Os resultados da concentração de Cu nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). A concentração desse micronutriente nas raízes não se ajustou a modelos de superfície de resposta e não variou significativamente com as doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). A média das concentrações de Cu nas raízes foi de 11,61 µg kg⁻¹ de massa seca.

As concentrações de Cu nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas foram aumentadas pelas doses de Ba apenas quando o S foi fornecido na dose de 0,1 mmol L⁻¹, enquanto o fornecimento de S resultou em menor concentração de Cu nesse tecido quando o Ba foi empregado em dose maior do que 5,0 mmol L⁻¹ (Figura 30). A concentração de Cu nos colmos e bainhas foi incrementada pelas doses de Ba quando combinadas com doses de S mais elevadas do que 1,9 mmol L⁻¹, enquanto as doses de S aumentaram o acúmulo de Cu nesse tecido nas doses de Ba maiores do que de 5,0 mmol L⁻¹ (Figura 31).

Cu ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

$$y = 6,510 - 4,575^{**}S + 1,034^{**}S^2 + 0,554Ba - 0,0179Ba^2 - 0,03180SBa$$

$R^2 = 0,49$ (A)

$$y = 5,591 - 1,853S + 0,379S^2 + 0,207Ba - 0,0035Ba^2 - 0,019SBa$$

$R^2 = 0,36$ (B)

Figura 30 - Concentração de cobre nas lâminas recém-expandidas (A) e demais lâminas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 31 - Concentração de cobre nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No material vegetal coletado no segundo corte, as doses de Ba aumentaram a concentração de Cu nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas (Tabela 13). Por outro lado, as doses de S proporcionaram menor concentração de Cu nos tecidos da parte aérea das plantas, independentemente da dose de Ba fornecida.

Tabela 13 - Concentração de cobre nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----				----- $\mu\text{g kg}^{-1}$ -----			
0,1	0,0 ²	4,98	±1,10	5,40	±0,89	6,00	±2,76
	5,0 ²	6,46	±1,47	6,33	±1,65	10,38	±2,51
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	2,58	±0,32	2,75	±0,21	3,20	±0,28
	10,0 ²	3,83	±0,18	3,93	±0,46	5,65	±0,71
1,9	0,0 ³	2,05	±0,15	2,58	±0,25	2,82	±0,80
	5,0 ¹	4,30	-	4,50	-	3,35	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	2,78	±1,38	1,98	±0,18	3,05	±1,48
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	2,22	±0,26	2,08	±0,18	1,77	±0,30
	5,0 ²	4,98	±1,31	4,03	±0,53	5,43	±3,01
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

O acúmulo de Cu nos colmos e bainhas no primeiro corte ajustou-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$), enquanto o acúmulo de Cu nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas no primeiro corte e também nas raízes não se ajustaram ao modelo de superfície de resposta e não variaram significativamente com as doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$).

As doses de Ba e de S aumentaram o acúmulo de Cu nos colmos e bainhas, sendo os maiores acúmulos desse nutriente observados nas combinações de doses de Ba maiores do que 10,0 mmol L⁻¹ com S em dose maior do que 1,9 mmol L⁻¹ (Figura 32). É interessante notar que as doses de S não proporcionaram variação significativa no acúmulo de Cu na ausência de Ba na solução nutritiva.

Figura 32 - Acúmulo de cobre nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte, as doses de Ba não influenciaram os acúmulos de Cu nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e colmos e bainhas (Tabela 14). O fornecimento de S incrementou o acúmulo de Cu nesses tecidos quando comparado às plantas cultivadas com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ e as cultivadas com as doses mais elevadas do nutriente.

Tabela 14 - Acúmulo de cobre nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----				----- µg/vaso -----			
	0,0 ²	5,09	±2,32	4,70	±2,13	12,50	±3,17
0,1	5,0 ²	3,09	±0,30	2,24	±0,19	36,31	±17,55
	20,0	-	-	-	-	-	-
	2,5 ²	23,01	±1,53	44,07	±10,48	85,24	±32,21
1,0	10,0 ²	22,46	±4,34	12,76	±15,76	74,56	±21,86
	0,0 ³	28,55	±9,82	59,70	±18,54	83,02	±38,57
1,9	5,0 ¹	21,54	-	31,68	-	112,79	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
	2,5 ²	14,11	±11,89	21,98	±23,21	32,25	±21,08
2,8	10,0	-	-	-	-	-	-
	0,0 ³	41,67	±6,79	59,64	±9,67	81,75	±18,01
3,7	5,0 ²	31,71	±26,58	30,70	±29,95	48,53	±17,11
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.7 Ferro

Os resultados das concentrações de Fe nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte não se ajustaram ao modelo de superfície de resposta e não foram significativamente afetadas pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). Para a concentração de Fe nas raízes não ocorreu ajuste dos resultados a modelo de superfície de resposta e também não foi significativa a variação em função das doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). As médias das concentrações de Fe nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte foram de 58,34; 72,65 e 65,38 mg kg⁻¹ de massa seca. Nas raízes essa média foi de 622,59 mg kg⁻¹ de massa seca.

Nos tecidos coletados no segundo corte das plantas não houve influência das doses de Ba nos acúmulos de Fe nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e colmos e bainhas (Tabela 15). Por outro lado, observou-se aumento no acúmulo de Fe nos tecidos avaliados no segundo corte em função das doses de S.

Tabela 15 - Concentração de ferro nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----				mg kg ⁻¹			
0,1	0,0 ²	62,30	±10,89	63,24	±2,92	89,55	±19,16
	5,0 ²	56,96	±3,46	91,27	±29,85	156,75	±58,34
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	76,98	±3,08	85,90	±4,67	126,38	±28,25
	10,0 ²	78,48	±9,30	73,70	±17,47	219,00	±77,78
1,9	0,0 ³	117,20	±19,26	65,20	±45,38	217,35	±139,73
	5,0 ¹	88,45	-	83,65	-	172,00	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	91,95	±24,18	119,20	±0,01	131,05	±2,90
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	104,32	±4,86	138,53	±40,40	137,75	±89,90
	5,0 ²	78,40	±17,25	78,60	±18,74	67,43	±30,87
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Os resultados de acúmulos de Fe nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$), enquanto o acúmulo de Fe nas raízes não se ajustou ao modelo superfície de resposta e não foi influenciado pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$).

As doses de Ba proporcionaram menor o acúmulo de Fe nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas, principalmente quando combinadas com doses de S maiores do que 2,8 mmol L⁻¹ (Figura 33). Por outro lado, as doses de S aumentaram os acúmulos de Fe nesses tecidos, principalmente quando aplicadas juntamente com doses de Ba mais baixas de 5,0 mmol L⁻¹. Os maiores acúmulos de Fe nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas colhidas no primeiro corte foram obtidos com o fornecimento de doses de S mais elevadas do que 1,9 mmol L⁻¹ e sem adição de Ba na solução nutritiva. É interessante notar que, quando foi suprido a dose de S de 0,1 mmol L⁻¹, as doses de Ba praticamente não afetaram os acúmulos de Fe lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas.

Diferentemente das respostas observadas nas folhas, o acúmulo de Fe nos colmos e bainhas no primeiro corte foi aumentado pelas doses de Ba e de S, principalmente nas combinações de doses de Ba maiores do que 10,0 mmol L⁻¹ com doses de S mais elevadas do que 2,8 mmol L⁻¹ (Figura 34).

Fe (mg/vaso)

$$y = 0,123 + 0,184*S - 0,011S^2 - 0,005Ba + 0,0003Ba^2 - 0,004*SBa$$

$R^2 = 0,56$ (A)

Fe (mg/vaso)

$$y = 0,156 + 0,251*S - 0,035*S^2 - 0,018Ba + 0,0007Ba^2 - 0,002SBa$$

$R^2 = 0,63$ (B)

Figura 33 - Acúmulo de ferro nas lâminas recém-expandidas (A) e demais lâminas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 34 - Acúmulo de ferro nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte, observou-se menores acúmulos de Fe nas lâminas recém-expandidas e demais lâminas mediante as doses de Ba, enquanto não houve efeito das doses do metal no acúmulo de Fe nos colmos e bainhas. As doses de S resultaram em aumento nos acúmulos de Fe nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas, principalmente em relação às plantas cultivadas com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ (Tabela 16).

Tabela 16 - Acúmulo de ferro nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----				mg/vaso			
0,1	0,0 ²	0,063	±0,026	0,053	±0,014	0,237	±0,196
	5,0 ²	0,028	±0,002	0,032	±0,001	0,507	±0,062
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	0,693	±0,104	1,405	±0,511	3,432	±1,721
	10,0 ²	0,470	±0,165	0,297	±0,388	3,183	±2,272
1,9	0,0 ³	1,606	±0,446	1,685	±1,468	6,212	±4,248
	5,0 ¹	0,443	-	0,589	-	5,791	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	0,739	±0,884	1,269	±1,287	1,802	±1,753
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	1,957	±0,183	3,925	±1,043	6,673	±5,157
	5,0 ²	0,493	±0,399	0,627	±0,645	0,610	±0,151
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.8 Manganês

Ocorreu ajuste dos resultados das concentrações de Mn nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte a modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). Para a concentração desse micronutriente nas raízes não houve ajuste dos resultados ao modelo de superfície de resposta e a mesma também não foi significativamente afetada pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). A média das concentrações de Mn nas raízes foi de $90,02 \text{ mg kg}^{-1}$ de massa seca.

As doses de Ba proporcionaram incrementos nas concentrações de Mn nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas apenas quando combinadas com doses de S menores do que $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figuras 35 e 36). Por sua vez, as doses de S resultaram em menor concentração de Mn nesses tecidos, principalmente quando aplicado conjuntamente com doses de Ba menores do que $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Dessa forma, as maiores concentrações de Mn nos tecidos da parte aérea das plantas no primeiro corte foram obtidas na combinação da dose de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com a de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Figura 35 - Concentração de manganês nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 36 - Concentração de manganês nas demais lâminas (A) e nos colmos e bainhas (C) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Nos tecidos vegetais do segundo corte, as doses de Ba mantiveram o incremento na concentração de Mn nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas, enquanto as doses de S resultaram em menor concentração de Mn nesses tecidos quando comparadas as plantas cultivadas com dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ com as cultivadas nas doses mais elevadas do nutriente (Tabela 17).

Tabela 17 - Concentração de manganês nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- mg kg ⁻¹ -----					
	0,0 ²	500,00	±210,72	427,21	±67,59	174,00	±49,50
0,1	5,0 ²	766,36	±262,30	505,49	±266,66	239,25	±9,55
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	50,75	±3,89	85,00	±17,68	57,00	±4,95
	10,0 ²	102,50	±22,63	130,00	±23,33	114,25	±3,18
	0,0 ³	27,17	±5,13	92,50	±27,72	53,67	±4,07
1,9	5,0 ¹	122,00	-	111,00	-	78,00	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	131,00	±142,13	62,50	±8,49	119,75	±89,45
	10,0	-	-	-	-	-	-
	0,0 ³	26,50	±7,40	56,67	±12,00	49,17	±12,85
3,7	5,0 ²	146,75	±106,42	122,50	±55,15	112,25	±47,73
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Ajuste dos resultados ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$) foi verificado para os acúmulos de Mn nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte. Esse ajuste não ocorreu para o acúmulo de Mn nas raízes e esse acúmulo não foi influenciado pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$).

As doses de Ba aumentaram o acúmulo de Mn nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas, principalmente quando esse metal foi aplicado em doses maiores do que 5,0 mmol L⁻¹, em combinação com S em dose mais elevada do que 1,0 mmol L⁻¹ (Figuras 37 e 38). Quando o S foi aplicado na dose de 0,1 mmol L⁻¹, as doses de Ba praticamente não afetaram esses acúmulos de Mn.

Mn (mg/vaso)

$$\text{Mn (LR)} = 0,267 + 0,306^{**}\text{S} - 0,073^{**}\text{S}^2 + 0,046^{**}\text{Ba} - 0,0020\text{Ba}^2 - 0,0007\text{SBa}$$

$R^2 = 0,52 \text{ (A)}$

Mn (mg/vaso)

$$y = 0,377 + 0,412^{**}\text{S} - 0,081^{**}\text{S}^2 - 0,0002\text{Ba} + 0,0001\text{Ba}^2 + 0,00007\text{SBa}$$

$R^2 = 0,45 \text{ (B)}$

Figura 37 - Acúmulo de manganês nas lâminas recém-expandidas (A) e nas demais lâminas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 38 - Acúmulo manganês nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte, não observou-se influência nos acúmulos de Mn nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas em função das doses de Ba, enquanto o fornecimento de S aumentou os acúmulos de Mn apenas em relação as plantas cultivadas com 0,1 mmol L⁻¹ do nutriente (Tabela 18).

Tabela 18 - Acúmulo de manganês nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- mg/vaso -----					
0,1	0,0 ²	0,471	±0,086	0,355	±0,051	0,470	±0,411
	5,0 ²	0,380	±0,176	0,170	±0,034	0,816	±0,240
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	0,455	±0,052	1,423	±0,717	1,480	±0,311
	10,0 ²	0,589	±0,011	0,508	±0,657	1,556	±0,679
1,9	0,0 ³	0,362	±0,032	2,007	±0,210	1,542	±0,397
	5,0 ¹	0,611	-	0,781	-	2,626	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	0,367	±0,021	0,620	±0,585	1,053	±0,395
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	0,507	±0,180	1,603	±0,254	2,250	±0,526
	5,0 ²	0,660	±0,068	0,703	±0,398	1,020	±0,216
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.3.9 Zinco

Os resultados das concentrações de Zn nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). Na concentração desse micronutriente nas raízes não ocorreu ajuste ao modelo de superfície de resposta e essa concentração não foi afetada pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). A média das concentrações de Zn nas raízes foi de $31,40 \text{ mg kg}^{-1}$ de massa seca.

As doses de Ba aumentaram as concentrações de Zn nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e nos colmos e bainhas apenas quando combinadas com doses de S menores do que $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figuras 39 e 40). As doses de S resultaram em menor concentração de Zn nesses tecidos, principalmente quando o S foi aplicado conjuntamente com doses de Ba maiores do que $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$. As maiores concentrações de Zn nos tecidos da parte aérea das plantas no primeiro corte foram obtidas na combinação de dose de Ba de $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com a de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$.

Figura 39 - Concentração de zinco nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Figura 40 - Concentração de zinco nas demais lâminas (A) e nos colmos e bainhas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte não observaram-se efeitos nas concentrações de Zn nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas em função das doses de Ba, enquanto o fornecimento de S aumentou os acúmulos de Zn apenas em relação as plantas cultivadas com 0,1 mmol L⁻¹ do nutriente (Tabela 19).

Tabela 19 - Concentração de zinco nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----				mg kg ⁻¹			
0,1	0,0 ²	27,60	±3,39	19,34	±1,15	50,38	±33,76
	5,0 ²	28,77	±3,61	35,75	±1,29	146,50	±53,39
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	13,58	±0,04	14,93	±1,52	21,50	±4,53
	10,0 ²	14,50	±4,03	15,08	±4,70	38,95	±21,64
1,9	0,0 ³	8,48	±0,32	15,57	±1,64	18,23	±4,68
	5,0 ¹	13,80	-	13,85	-	19,90	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	15,10	±7,57	15,13	±0,32	20,20	±12,45
	10,0	-	-	-	-	-	-
3,7	0,0 ³	8,07	±0,38	14,15	±3,78	10,88	±2,77
	5,0 ²	13,78	±3,85	14,03	±1,03	28,65	±2,97
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Os resultados dos acúmulos de Zn nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas no primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$), enquanto aqueles relativos ao acúmulo de Zn nos colmos e bainhas no primeiro corte e nas raízes não se ajustaram ao modelo de superfície de resposta e também não variaram significativamente com as doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$).

As doses de Ba proporcionaram aumento no acúmulo de Zn nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas quando combinadas com doses de S menores do que 2,8 mmol L⁻¹, enquanto as doses de S resultaram em incremento nos acúmulos desse micronutriente principalmente na ausência de Ba na solução nutritiva (Figura 41). Nota-se que, quando foi fornecido na dose de S de 0,1 mmol L⁻¹, as doses de Ba não alteraram expressivamente esses acúmulos de Zn.

Zn (mg/vaso)

$$y = 0,050 + 0,053*S - 0,009S^2 + 0,006Ba - 0,0003Ba^2 - 0,0008SBa$$

$R^2 = 0,34$ (A)

Zn (mg/vaso)

$$y = 0,070 + 0,076**S - 0,012*S^2 + 0,0004Ba - 0,00006Ba^2 - 0,0008SBa$$

$R^2 = 0,42$ (B)

Figura 41 - Acúmulo de zinco nas lâminas recém-expandidas (A) e nas demais lâminas (B) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Nos tecidos vegetais coletados no segundo corte das plantas, as doses de Ba proporcionaram menores acúmulos de Zn nas lâminas recém-expandidas e demais lâminas, enquanto o acúmulo de Zn nos colmos e bainhas não foi afetado pelas doses do metal (Tabela 20). Por outro lado, o fornecimento de S resultou em incremento no acúmulo de Zn nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas.

Tabela 20 - Acúmulo de zinco nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
----- mmol L ⁻¹ -----		----- mg/vaso -----					
	0,0 ²	0,028	±0,010	0,016	±0,004	0,096	±0,001
0,1	5,0 ²	0,014	±0,000	0,013	±0,004	0,521	±0,309
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ²	0,123	±0,023	0,238	±0,051	0,583	±0,285
	10,0 ²	0,083	±0,003	0,043	±0,050	0,467	±0,076
	0,0 ³	0,118	±0,037	0,357	±0,097	0,537	±0,234
1,9	5,0 ¹	0,069	-	0,098	-	0,670	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ²	0,077	±0,064	0,163	±0,167	0,196	±0,103
	10,0	-	-	-	-	-	-
	0,0 ³	0,151	±0,010	0,401	±0,097	0,507	±0,158
3,7	5,0 ²	0,088	±0,075	0,104	±0,098	0,276	±0,089
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.4 Índice SPAD

Os valores de índice SPAD observados no primeiro corte em função das doses de S e das doses de Ba ajustaram-se ao modelo da superfície de resposta ($p < 0,01$). O aumento da dose de Ba resultou em menor o índice SPAD nas plantas, principalmente quando cultivadas com dose de S de 3,7 mmol L⁻¹. Por outro lado, o aumento das doses de S incrementou acentuadamente o índice SPAD, principalmente na ausência do Ba na solução nutritiva (Figura 42). No momento do segundo corte, as doses de Ba proporcionaram menor índice SPAD nas plantas apenas quando combinadas com doses de S maiores do que 1,9 mmol L⁻¹, (Tabela 21).

O índice SPAD nas plantas correlacionou-se positivamente com os acúmulos de S nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no momento do primeiro corte das plantas (Figura 43). O índice SPAD não se correlacionou com as concentrações de S nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no momento do primeiro corte das plantas ($p > 0,05$).

Figura 42 - Índice SPAD nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Tabela 21 - Índice SPAD nas lâminas-recém-expandidas do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	SPAD	dp*
----- mmol L ⁻¹ -----			
0,1	0,0 ²	19,65	±1,63
	5,0 ²	20,10	±5,37
	20,0	-	-
1,0	2,5 ²	28,80	±8,34
	10,0 ²	35,10	±1,70
1,9	0,0 ³	36,27	±4,65
	5,0 ¹	29,80	
	20,0	-	-
2,8	2,5 ²	36,75	±3,18
	10,0	-	-
3,7	0,0 ³	32,93	±1,95
	5,0 ²	25,65	±3,89
	20,0	-	-

* = desvio padrão; /1, /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Figura 43 - Correlações entre o índice SPAD e os acúmulos de S nas lâminas recém-expandidas (A), nas demais lâminas (B) e nos colmos e bainhas (C) do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

4.5 Indicadores de estresse

4.5.1 Malondialdeído

Os resultados da concentração de malondialdeído (MDA) nas lâminas recém-expandidas no primeiro corte das plantas ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). Por outro lado, aqueles das concentrações de MDA nas demais lâminas, nos colmos e bainhas no primeiro corte, e nas raízes não se ajustaram a modelos de superfície de resposta e não foram significativamente afetados pelas doses de S e doses de Ba isoladamente ($p > 0,05$). As concentrações médias de MDA nas demais lâminas e colmos e bainhas no primeiro corte foram de 43,97 e 22,92 nmol g⁻¹ de massa fresca, respectivamente, enquanto essa média para as raízes foi de 8,0 nmol g⁻¹ de massa fresca.

A concentração de MDA nas lâminas recém-expandidas coletadas no primeiro corte das plantas aumentou com as doses de S e de Ba. Esse aumento foi observado principalmente nas combinações das doses de S mais elevadas do que 1,9 mmol L⁻¹ com as de Ba maiores do que 5,0 mmol L⁻¹ (Figura 44).

Figura 44 - Concentração de malondialdeído (MDA) nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

No segundo corte, a resposta observada na concentração de MDA nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e colmos e bainhas não mostrou padrão definido de variação com as doses testadas (Tabela 22).

Tabela 22 - Concentração de malondialdeído nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
--- mmol L ⁻¹ ---		----- nmol g ⁻¹ -----					
0,1	0,0 ³	25,46	±2,19	26,41	±2,00	20,04	±9,34
	5,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ³	24,95	±0,98	33,72	±0,30	15,74	±0,93
	10,0 ²	26,84	±0,73	31,61	±0,91	18,71	±4,20
1,9	0,0 ³	24,60	±1,51	36,22	±10,07	13,51	±4,03
	5,0 ²	12,90	±16,06	24,65	±19,16	19,87	±4,74
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ³	26,15	±12,44	37,51	±1,30	20,56	±2,19
	10,0 ²	27,23	±8,58	33,55	±0,01	16,90	±0,55
3,7	0,0 ³	22,88	±5,73	42,67	±5,73	21,51	±5,52
	5,0 ³	28,65	±4,82	32,95	±3,88	17,12	±0,60
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.5.2 Peróxido de hidrogênio

Não se obteve ajuste dos resultados das concentrações de peróxido de hidrogênio nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e colmos e bainhas no momento do primeiro corte, e nas raízes a modelos de superfície de resposta. Essas variáveis também não mostraram alterações significativas em função das doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). As concentrações médias de peróxido de hidrogênio lâminas recém-expandidas, demais lâminas e colmos e bainhas no primeiro corte foram de 2,8; 2,74 e 0,28 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa fresca, respectivamente, enquanto a concentração média de peróxido de hidrogênio nas raízes foi de 0,46 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de massa fresca.

No segundo corte também não foram observadas respostas consistentes nas concentrações de peróxido de hidrogênio nas lâminas recém-expandidas, nas demais lâminas e nos colmos e bainhas em função das combinações de doses de Ba com doses de S (Tabela 23).

Tabela 23 - Concentração de peróxido de hidrogênio nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
--- mmol L ⁻¹ ---		-----		μmol g ⁻¹ -----		-----	
0,1	0,0 ³	1,15	±0,19	0,61	±0,53	0,43	±0,47
	5,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ³	1,04	±0,58	0,43	±0,74	0,07	±0,07
	10,0 ²	0,71	±0,08	0,41	±0,58	0,03	±0,02
1,9	0,0 ³	1,13	±0,14	1,81	±0,21	0,10	±0,10
	5,0 ²	1,36	±0,72	1,31	±0,17	0,18	±0,06
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ³	1,60	±0,62	0,53	±0,92	0,19	±0,06
	10,0 ²	0,62	±0,48	0,00	0,00	0,07	±0,04
3,7	0,0 ³	1,19	±0,32	1,59	±0,18	0,19	±0,32
	5,0 ³	1,55	±0,45	1,00	±0,91	0,04	±0,04
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.5.3 Prolina

Os resultados de concentração de prolina nos colmos e bainhas no do primeiro corte ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta ($p < 0,01$). Para as concentrações desse indicador de estresse nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas no momento do primeiro corte, assim como nas raízes, não ocorreram ajustes a modelo de superfície de resposta, assim como não foram afetadas significativamente pelas doses de S e de Ba isoladamente ($p > 0,05$). As concentrações médias de prolina nas lâminas recém-expandidas e demais lâminas no primeiro corte foram de 5,36 e 8,56 nmol g⁻¹ de massa fresca, respectivamente, enquanto a concentração média de prolina nas raízes foi de 3,22 nmol g⁻¹ de massa fresca.

A concentração de prolina nos colmos e bainhas no primeiro corte foi aumentada pelas doses de Ba, principalmente quando combinadas com as doses de S de menores do que 1,9 mmol L⁻¹, enquanto o aumento das doses de S resultou menor concentração de prolina, principalmente quando a dose de S foi combinada com a dose de Ba de 20,0 mmol L⁻¹ (Figura 45). No momento do segundo corte, não foi constatada influência nas concentrações de prolina em função das doses de S e Ba (Tabela 24).

Figura 45 - Concentração de prolina nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Tabela 24 - Concentração de prolina nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
--- mmol L ⁻¹ ---		----- nmol g ⁻¹ -----					
0,1	0,0 ³	4,33	±1,43	4,78	±1,68	4,54	±2,36
	5,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ³	5,61	±2,02	3,63	±2,01	3,78	±1,38
	10,0 ²	7,72	±2,08	3,43	±0,35	4,61	±1,81
1,9	0,0 ³	6,93	±2,58	8,98	±5,98	6,29	±0,81
	5,0 ²	3,38	±0,35	14,97	±3,12	2,84	±0,69
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ³	5,79	±7,25	5,52	±1,27	4,77	±2,48
	10,0 ²	7,85	±1,19	5,27	±0,84	4,06	±2,89
3,7	0,0 ³	3,79	±1,15	5,04	±2,37	9,81	±4,76
	5,0 ³	5,61	±1,92	5,39	±1,69	5,77	±0,14
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.6 Atividade das enzimas do sistema antioxidante

4.6.1 Glutathione redutase

O modelo de superfície de resposta serviu para ajustar os resultados da atividade da glutathione redutase nas lâminas recém-expandidas e demais lâminas coletadas no primeiro corte ($p < 0,01$). Com relação a atividade dessa enzima nos colmos e bainhas no primeiro corte e nas raízes não ocorreram ajustes ao modelo de superfície de resposta e não foram afetadas pelas doses de S e de Ba isoladamente ($p > 0,05$). A atividade média da glutathione redutase nos colmos e bainhas no primeiro corte e nas raízes foram de 93,79 e 48,79 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$, respectivamente.

Foi observada maior atividade da glutathione redutase nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas quando o S foi fornecido na dose de 0,1 mmol L^{-1} combinada com a dose de Ba de até 5,0 mmol L^{-1} , detectando-se menor atividade dessa enzima mediante o incremento das doses de S e de Ba em valores maiores que os dessa combinação (Figuras 46 e 47). No segundo corte, não foram observados efeitos nas atividades da glutathione redutase nos tecidos avaliados (Tabela 25).

Figura 46 - Atividade da glutathione redutase nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

$$\text{GR } (\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg de proteína}^{-1})$$

$$y = 50,198 - 17,572*S + 0,2860S^2 - 0,351\text{Ba} - 0,000841\text{Ba}^2 - 0,025\text{SBa}$$

$$R^2 = 0,40 \text{ (B)}$$

Figura 47 - Atividade da glutathione redutase nas demais lâminas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Tabela 25 - Atividade da glutathione redutase (GR) nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
--- mmol L ⁻¹ ---		----- μmol min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹ -----					
0,1	0,0 ³	20,28	±3,98	16,84	±5,20	85,68	±47,75
	5,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ³	27,47	±11,10	46,46	±30,82	77,82	±33,38
	10,0 ²	10,47	±2,10	11,56	±5,68	66,82	±16,95
1,9	0,0 ³	13,47	±1,14	16,74	±2,75	76,29	±47,36
	5,0 ²	8,73	±5,83	12,38	±2,23	36,58	±6,13
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ³	11,41	±3,96	25,69	±9,69	32,60	±9,84
	10,0 ²	16,12	±8,69	28,74	±11,07	23,63	±9,17
3,7	0,0 ³	13,37	±5,82	17,13	±5,12	36,75	±25,58
	5,0 ³	15,12	±5,62	14,29	±3,50	35,73	±5,05
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.6.2 Superóxido dismutase

A análise da atividade da superóxido dismutase em gel não-desnaturante não mostrou diferença nas isoformas reveladas em função das doses de S e doses de Ba, em ambos os cortes do capim. Nas amostras de lâminas recém-expandidas e demais lâminas foram identificadas claramente três isoformas da enzima (Figura 48). Nas amostras de colmos e bainhas e raízes não foi possível identificar as isoformas, independentemente da combinação da dose de S com dose de Ba utilizada, indicando que a atividade da enzima nesses tecidos era menor que o limite de detecção em gel.

Figura 48 - Atividade da superóxido dismutase em gel não desnaturante nas lâminas recém-expandidas (LR) e demais lâminas (DL) do capim tanzânia em função das combinações de doses S $\times$ Ba, no material vegetal coletado no primeiro corte (P = padrão SOD bovino; doses de S: 0,1; 1,0; 1,9; 2,8 e 3,7 mmol L⁻¹; doses de Ba: 0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 mmol L⁻¹)

4.6.3 Catalase

Os resultados da atividade da catalase nas lâminas recém-expandidas ajustaram-se ao modelo de superfície de resposta, no momento do primeiro corte ($p < 0,01$). As atividades dessa enzima nas demais lâminas e colmos e bainhas no primeiro corte, assim como nas raízes, não se ajustaram a modelos de superfície de resposta e nem foram significativamente afetadas pelas doses de S e de Ba isoladamente ($p > 0,05$). As atividades médias da catalase nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte foram de 76,61 e 195,75 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$, respectivamente. A atividade média da catalase nas raízes foi de 46,42 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$.

A resposta da atividade da catalase foi similar à observada na atividade da glutathione redutase. As doses de S resultaram em menor a atividade da catalase nas lâminas recém-expandidas, principalmente quando combinadas com doses de Ba maiores do que $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$, de forma que a maior atividade dessa enzima foi observada na combinação da dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ com dose de Ba de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 49). No segundo corte, não foi observada efeito nas atividades da catalase nos tecidos e função das doses de Ba e S (Tabela 26).

Figura 49 - Atividade da catalase nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Tabela 26 - Atividade da catalase nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre e com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
---	mmol L ⁻¹ ---	----- $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$ -----					
0,1	0,0 ³	9,87	±0,38	10,37	±3,12	87,84	±33,68
	5,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ³	12,25	±3,68	26,78	±11,97	77,22	±14,31
	10,0 ²	6,93	±3,67	8,05	±0,76	46,12	±9,72
1,9	0,0 ³	7,53	±0,96	9,16	±3,04	245,41	±234,34
	5,0 ²	4,50	±5,61	8,06	±1,22	46,35	±5,46
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ³	6,00	±1,67	43,38	±25,78	47,40	±12,80
	10,0 ²	15,60	±11,80	35,07	±33,57	42,17	±10,64
3,7	0,0 ³	9,71	±2,09	14,28	±3,77	66,22	±12,39
	5,0 ³	9,15	±2,12	10,13	±4,84	160,39	±83,82
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.6.4 Ascorbato peroxidase

Para a atividade da ascorbato peroxidase nas lâminas recém-expandidas ocorreu ajuste dos resultados ao modelo de superfície de resposta no momento do primeiro corte ($p < 0,01$). Os resultados da atividade dessa enzima nas demais lâminas e colmos e bainhas no primeiro corte, e também nas raízes não se ajustaram ao modelo de superfície de resposta e não foram significativamente influenciadas pelas doses de S e de Ba isoladamente ($p > 0,05$). As atividades médias da ascorbato peroxidase nas demais lâminas e nos colmos e bainhas no primeiro corte foram de 124,55 e 639,19 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$, respectivamente, enquanto a atividade média da ascorbato peroxidase nas raízes foi de 467,99 $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$.

A resposta da atividade da ascorbato peroxidase foi semelhante à observada para as atividades da glutathione redutase e da catalase. A atividade da ascorbato peroxidase foi menor com o incremento das doses de S e de Ba, com a maior atividade dessa enzima sendo observada na combinação da dose de S de 0,1 mmol L⁻¹ com a ausência do Ba na solução nutritiva (Figura 50). Assim como observado nas atividades da glutathione redutase e catalase, a atividade da ascorbato peroxidase não apresentou influência no segundo corte em função das doses de Ba e S em todos os tecidos avaliados (Tabela 27).

Figura 50 - Atividade da ascorbato peroxidase nas lâminas recém-expandidas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

Tabela 27 - Atividade da ascorbato peroxidase nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
--- mmol L ⁻¹ ---		----- nmol min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹ -----					
0,1	0,0 ³	68,12	±10,08	65,14	±14,32	678,27	±511,50
	5,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ³	86,96	±39,87	191,04	±131,51	316,88	±130,08
	10,0 ²	33,24	±7,16	40,47	±3,84	266,23	±12,02
1,9	0,0 ³	43,13	±8,33	47,01	±16,99	589,70	±285,17
	5,0 ²	32,81	±19,82	45,37	±6,85	249,44	±63,51
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ³	42,27	±6,22	189,74	±128,35	220,33	±107,30
	10,0 ²	92,92	±59,18	170,78	±158,84	192,81	±186,48
3,7	0,0 ³	51,41	±3,58	63,22	±28,12	353,08	±60,03
	5,0 ³	56,63	±8,68	54,85	±30,09	108,76	±126,29
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

4.6.5 Guaiacol peroxidase

Diferentemente das respostas observadas nas atividades da glutathione redutase, catalase e ascorbato peroxidase, a atividade da guaiacol peroxidase só foi afetada pelas doses de S e de Ba nos colmos e bainhas. Os resultados da atividade da guaiacol peroxidase neste tecido ajustaram-se ao modelo da superfície de resposta no momento do primeiro corte ($p < 0,01$).

A atividade dessa enzima nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas no primeiro corte, e também nas raízes, não apresentou resultados que se ajustaram ao modelo de superfície de reposta e também não foram significativamente afetadas pelas doses de Ba e de S isoladamente ($p > 0,05$). As atividades médias da guaiacol peroxidase nas lâminas recém-expandidas e nas demais lâminas no primeiro corte foram de 546,76 e 622,33 U min⁻¹ mg de proteína⁻¹, respectivamente. A atividade média da guaiacol peroxidase nas raízes foi de 458,23 U min⁻¹ mg de proteína⁻¹.

Além disso, a resposta da guaiacol peroxidase também foi diferente das enzimas glutathione redutase, catalase e ascorbato peroxidase, tendo em vista que as doses de Ba e de S aumentaram a atividade dessa enzima. As doses de Ba aumentaram a atividade da guaiacol peroxidase, principalmente quando combinadas com doses de S maiores do que 1,0 mmol L⁻¹, enquanto as doses S aumentaram a atividade dessa enzima quando combinada com a dose de Ba de 20,0 mmol L⁻¹ (Figura 51). No entanto, não foi efeito na atividade da guaiacol peroxidase no segundo corte em função das doses de Ba e S (Tabela 28).

Tabela 28 - Atividade da guaiacol peroxidase nas lâminas-recém-expandidas (LR), demais lâminas (DL) e colmos e bainhas (CB) do capim tanzânia em função das combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do segundo corte das plantas

S	Ba	LR	dp*	DL	dp	CB	dp
---	mmol L ⁻¹ ---	U min ⁻¹ mg de proteína ⁻¹ -----					
	0,0 ³	1133,33	±172,95	344,00	±65,02	407,33	±233,34
0,1	5,0	-	-	-	-	-	-
	20,0	-	-	-	-	-	-
1,0	2,5 ³	903,33	±230,50	227,60	±209,37	234,00	±301,32
	10,0 ²	1045,50	±485,78	359,00	±28,00	390,00	±168,29
	0,0 ³	865,47	±520,26	225,60	±195,38	308,67	±234,51
1,9	5,0 ²	880,00	±74,95	387,80	±26,30	1031,00	±60,81
	20,0	-	-	-	-	-	-
2,8	2,5 ³	601,67	±323,54	571,33	±224,07	547,67	±11,72
	10,0 ²	536,40	±214,39	633,40	±221,47	590,50	±84,15
	0,0 ³	816,40	±478,72	453,87	±122,99	656,67	±137,27
3,7	5,0 ³	770,27	±372,57	673,47	±355,95	440,00	±381,74
	20,0	-	-	-	-	-	-

* = desvio padrão; /2, /3 = número de repetições avaliadas no segundo corte

Figura 51 - Atividade da guaiacol peroxidase nos colmos e bainhas do capim tanzânia em função de combinações de doses de enxofre com doses de bário na solução nutritiva, no momento do primeiro corte

5 DISCUSSÃO

Normalmente, o Ba no ambiente não apresenta concentrações tóxicas às plantas, devido à maior parte deste metal estar na forma de barita (BaSO_4), que é um composto de baixa solubilidade em água. A formação deste composto é a provável causa da ausência da toxidez de Ba em vários estudos onde as plantas foram cultivadas em solos artificialmente contaminados com esse metal (NOGUEIRA et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2012). Por outro lado, no cultivo hidropônico possível evitar a formação da barita, de forma que o Ba predomina na solução na forma do cátion Ba^{2+} (LLUGANY et al. 2000; MONTEIRO et al., 2011), a qual é a mais tóxica do elemento e possibilita a observação do efeito desse contaminante nas plantas cultivadas em tais condições. Assim, apesar de serem escassos, os estudos realizados com Ba em solução nutritiva têm demonstrado a fitotoxidez do metal, nos quais a inibição do crescimento é sintoma característico em espécies vegetais, como foi observado no presente estudo.

Os fornecimentos de Ba e de S para o capim tanzânia aumentaram drasticamente a concentração e o acúmulo do Ba nos tecidos da parte aérea e as plantas com maiores quantidades de Ba nos tecidos apresentaram também menor produção de biomassa das folhas, menor número de folhas, menor área foliar e maior mortalidade após o primeiro corte, indicando efeito tóxico do metal nos tecidos do capim tanzânia. Contudo, o número de perfilhos e a produção de biomassa nos colmos e bainhas foram maiores nas plantas cultivadas com altas doses de Ba e de S, apesar do maior acúmulo e concentração de Ba nessas plantas. Essa alocação de biomassa nos colmos e bainhas em situações de alta disponibilidade de Ba pode ser um mecanismo de diminuição da toxidez do metal no capim tanzânia, através do favorecimento do acúmulo de Ba nos colmos e bainhas, diminuindo assim seu transporte para as folhas onde o metal poderia interferir em maior número de processos metabólicos.

O aumento da concentração Ba em função do fornecimento do metal e deve-se à elevação da disponibilidade deste na solução nutritiva, enquanto o aumento do acúmulo de Ba em função das doses de S pode ser explicado pela maior produção de biomassa nas plantas cultivadas com elevadas concentrações do nutriente na solução nutritiva. As plantas que apresentaram maiores concentrações e acúmulos de Ba apresentaram inibição de crescimento e aparecimento de sintomas de toxidez mais severos. Contudo, nas plantas cultivadas com baixa dose de S ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$), o efeito negativo do Ba no crescimento das plantas foi menos pronunciado, devido provavelmente à limitação do crescimento imposta pela deficiência de S, a qual foi tão prejudicial ao crescimento das plantas quanto o efeito tóxico causado pelo Ba.

Dentre os estudos realizados sobre a toxidez de Ba nas plantas, observa-se ampla faixa de concentrações tóxicas do metal no meio de crescimento, provavelmente em virtude do uso de variadas espécies, cultivos e doses do metal. Contudo, nota-se que a inibição do crescimento e a morte das plantas são sintomas marcantes da toxidez causada pela exposição à elevada disponibilidade de Ba, em concentrações muito superiores às normalmente observadas no ambiente.

Wallace e Romney (1971) constataram a morte de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com apenas 96 horas de exposição das raízes ao Ba de 100 mmol L⁻¹ na solução nutritiva, enquanto Llugany et al. (2000) observaram a inibição do crescimento das folhas dessa espécie com fornecimento de Ba de 0,5 mmol L⁻¹ e inibição do crescimento das raízes na presença de Ba de 5,0 mmol L⁻¹ na solução nutritiva, por 48 horas. Minton e Wilson (1973) verificaram inibição do crescimento de plantas de feijão mungo [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek] cultivadas com Ba de 25 mmol L⁻¹ na solução nutritiva por 96 horas, enquanto Debhath e Mukherji (1982) constataram a inibição do crescimento dessa espécie com a exposição ao Ba de apenas 0,1 mmol L⁻¹ por 72 horas na solução nutritiva. Suwa et al. (2008) também observaram inibição na produção de massa seca da soja (*Glycine max* L.) a partir da dose de Ba de 0,1 mmol L⁻¹ na solução nutritiva, sendo que aplicação desse metal de 5,0 mmol L⁻¹ inibiu a produção de massa seca das plantas em aproximadamente 30% após 21 dias de exposição ao metal.

Apesar da inibição do crescimento ser característica da fitotoxidez de Ba, os mecanismos dessa toxidez ainda não foram claramente estabelecidos, devido ao grande número de variáveis fisiológicas envolvidas. Minton e Wilson (1973) observaram aumento acentuado da concentração de Ba nas mitocôndrias do feijão mungo cultivado com Ba de 25 mmol L⁻¹ na solução nutritiva, propondo que esse acúmulo de Ba nas mitocôndrias pode desbalancear a fosforilação oxidativa, alterando o balanço energético das plantas e diminuindo os níveis de ATP, molécula utilizada em importantes processos ligados ao crescimento das plantas.

Em relação ao capim tanzânia, Monteiro et al. (2011) apontaram como tóxica a dose de Ba de 1,24 mmol L⁻¹ na solução nutritiva, que inibiu a produção de massa seca da parte aérea em 10%, e provocou clorose internerval nas folhas maduras do capim. No presente estudo observou-se efeito semelhante, com aparecimento de clorose internerval nas folhas maduras e crescimento das plantas a partir da dose de Ba de 2,5 mmol L⁻¹ na solução nutritiva, com aumento progressivo na inibição do crescimento nas doses mais altas do metal, sobretudo quando combinadas com altas doses de S na solução nutritiva.

Monteiro et al. (2011) verificaram expressivo aumento na concentração do Ba nos tecidos do capim tanzânia mediante a exposição a esse metal na solução. Também constataram que a concentração de Ba nas lâminas recém-expandidas, demais lâminas e colmos e bainhas dessa gramínea foi marcadamente maior que nas raízes. No presente estudo a concentração do metal foi maior nas raízes, efeito que provavelmente está relacionado com a precipitação do Ba com o S nas raízes e que pode ter sido favorecida pelas doses do nutriente. Contudo, o comportamento do Ba nas plantas ainda não foi completamente esclarecido, existindo a necessidade de estudos sobre da absorção, transporte e acúmulo do metal, os quais poderiam auxiliar na compreensão dessa variação.

O nível crítico de toxidez de Ba nas folhas recém-expandidas do capim tanzânia sugerido por Monteiro et al. (2011) é de $0,225 \text{ g kg}^{-1}$. No presente estudo, observou-se acentuada inibição do crescimento nas plantas com concentrações do metal a partir de aproximadamente $1,0 \text{ g kg}^{-1}$ nas folhas recém-expandidas, as quais foram obtidas nas doses de Ba maiores que $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$. Essa diferença pode estar relacionada ao emprego de menor dose do metal por aqueles autores ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Ba na solução nutritiva), que possibilitou avaliar o efeito do metal em faixa de concentração na solução nutritiva menor que a utilizada no presente estudo. Assim, a utilização de doses menores de Ba poderia melhorar a avaliação do efeito do metal, além de indicar que, apesar do capim tanzânia tolerar altas concentrações de Ba no tecido vegetal em relação a outros contaminantes, os efeitos são extremamente severos quando essa concentração ultrapassa o nível crítico de toxidez. Por outro lado, essa maior tolerância das plantas no presente estudo pode também estar relacionada ao melhor estado nutricional proporcionado pelas doses de S testadas, enquanto naquele estudo a dose de S foi fixada em 2 mmol L^{-1} , como proposto por Hoagland e Arnon (1950).

Apesar dos severos efeitos tóxicos do Ba observados no capim tanzânia, os resultados do presente estudo indicam que o aumento da dose de S na solução nutritiva alivia efeitos nocivos desse metal no crescimento das plantas, mesmo havendo aumento da concentração e do acúmulo de Ba mediante o fornecimento de mais alta dose de S. Quando se elevou a dose de S na solução nutritiva, as plantas tiveram maior crescimento, mesmo quando expostas às maiores doses de Ba, constatando assim redução na inibição do crescimento das plantas provocada pelo Ba na solução nutritiva. Nota-se que, mesmo nas plantas que receberam as maiores doses de S combinadas com as maiores doses de Ba, nas quais a concentração e o acúmulo de Ba foi acentuadamente maior, o crescimento das plantas foi favorecido pelo fornecimento de S em mais alta concentração no meio de crescimento.

A elevação da dose de S na solução nutritiva aumentou a produção de massa seca da parte aérea, número de perfilhos, área foliar e número de folhas do capim tanzânia. Considerando que Schmidt, De Bona e Monteiro (2013) observaram máximo crescimento do capim tanzânia quando foi fornecido S de $1,26 \text{ mmol L}^{-1}$ em solução nutritiva, e que no presente estudo, as plantas apresentaram ganhos no crescimento com S até $1,9 \text{ mmol L}^{-1}$ quando combinadas com altas doses de Ba, torna-se evidente que a suplementação adicional de S possui importante papel no mecanismo de resistência do capim tanzânia ao estresse causado por Ba. Por outro lado, a aplicação de doses baixas de S foi tão prejudicial às plantas quanto a exposição às altas doses de Ba, com as plantas apresentando crescimento reduzido e clorose generalizada da lamina de folha recém-expandida, o que se refletiu no baixo valor SPAD determinado nessas lâminas foliares do capim tanzânia, o que tem sido característico da deficiência de S (SANTOS et al., 1997). A correlação entre o índice SPAD e o acúmulo de S nos tecidos da parte aérea indica que esse índice pode ser utilizado para estimar o estado nutricional de S nas plantas expostas ao Ba.

Os maiores acúmulos e concentrações de S nas plantas mediante o fornecimento das doses de S e de Ba na solução nutritiva, deve-se provavelmente ao aumento da disponibilidade do nutriente aliada ao incremento da demanda do mesmo para o mecanismo de defesa contra a toxidez causada por Ba, considerando principalmente que a concentração e o acúmulo de S foi maior nas plantas cultivadas com dose de S de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com dose de Ba de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do que nas cultivadas com dose de S de $3,7 \text{ mmol L}^{-1}$ e sem Ba na solução nutritiva. Isto é evidenciado pela concentração de S nas lâminas recém-expandidas, que no material colhido no segundo corte esteve em torno de $0,71 \text{ g kg}^{-1}$ nas plantas cultivadas com dose de S de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e de Ba de $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Schmidt, De Bona e Monteiro (2013) observaram valores próximos a esses nas folhas recém-expandidas do capim tanzânia, onde a concentração de S foi de aproximadamente $0,6 \text{ g kg}^{-1}$ de S em plantas nutridas com doses de S maiores do que $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Se por um lado, o aumento na concentração de S no tecido vegetal em função das doses desse nutriente pode ser explicado pelo aumento da disponibilidade do mesmo, o aumento na concentração de S no tecido vegetal mediante a exposição ao Ba indica que as plantas buscam absorver mais S como mecanismo de defesa ao estresse causado pelo metal.

Observou-se no presente estudo que, à medida que as doses de S e de Ba foram aumentadas na solução nutritiva, as concentrações e acúmulos de ambos elementos foram maiores nas raízes. Magalhães et al. (2012) verificaram que o transporte de Ba para a parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) exposto a 3 g kg^{-1} do metal em terra fina seca ao ar de

amostra de Gleissolo por quatro meses, foi diminuída à medida que o teor do elemento no solo foi aumentado. Isto indica que, quando a concentração de Ba no substrato aumenta, as plantas concentram o metal majoritariamente nas raízes, diminuindo o transporte do metal para a parte aérea, em especial para as folhas, onde ele provavelmente seria mais nocivo, devido aos processos fisiológicos que seriam afetados nessa parte da planta (TAIZ; ZEIGER, 2004). Essa tendência também justificaria o acúmulo de Ba superior nos colmos e bainhas em relação às folhas.

No presente estudo, essa manutenção de mais Ba nas raízes foi favorecida também pelo fornecimento de S, sugerindo que Ba e S provavelmente precipitaram nas raízes do capim tanzânia (formando sulfato de bário), o que é importante estratégia para o alívio do estresse de Ba em plantas (Wang, 1988). Em parte, isso justificaria o efeito do S na amenização do estresse causado pelo Ba nas plantas, tanto no estímulo do crescimento quanto na melhoria do estado nutricional, ambos claramente observados no presente estudo. A concentração de S nas raízes foi acentuadamente elevada apenas quando o Ba foi adicionado na solução nutritiva e a concentração desse nutriente nas raízes foi maior que nos tecidos da parte aérea colhidos em ambos os cortes.

O aparecimento de sintomas de toxidez de Ba apenas quando as concentrações desse metal estão muito altas no tecido vegetal indica que o Ba prejudica severamente o crescimento das plantas apenas quando expostas às altas doses do contaminante. Por outro lado, tem sido verificado que altas concentrações de Ba no tecido vegetal estão geralmente associadas ao desequilíbrio nutricional das plantas, principalmente em relação aos nutrientes catiônicos, sugerindo que o estado nutricional mediante a exposição às altas concentrações do metal no meio de crescimento é um importante mecanismo da toxidez de Ba nas plantas (LLUGANY et al., 2000).

No presente estudo, as doses de Ba e S influenciaram os nutrientes avaliados no capim tanzânia. De forma geral, as doses de S aumentaram os acúmulos de Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn, ao passo que resultaram em menores concentrações desses nutrientes. Isto deve-se ao fato das plantas cultivadas com baixas doses de S produzirem menos biomassa, elevando assim a concentração dos nutrientes, enquanto o fornecimento de S aumentou a produção de biomassa, favoreceu a diluição interna e proporcionou menores concentrações dos nutrientes.

Considerando que as doses de Ba propiciaram menor produção de biomassa, o efeito do metal no estado nutricional foi o inverso ao proporcionado pelo S. Assim, as doses de Ba aumentaram as concentrações de Mg, Cu, Mn e Zn, porém proporcionaram menores acúmulos. Dessa forma, tanto o efeito das doses de S quanto às de Ba nesses nutrientes deve-

se ao efeito de diluição, onde a restrição de crescimento, causada tanto pela deficiência de S quanto pela toxidez de Ba foi responsável pelo aumento de suas concentrações, ao passo que o aumento da dose de S e a diminuição da dose de Ba proporcionou aumento da produção de biomassa, aumentando seus acúmulos, em efeitos observados principalmente no segundo corte. Por outro lado, foram observados efeitos diferenciados nas concentrações e acúmulos de K e Ca em função das doses de Ba, pois, de forma geral, as doses do metal proporcionaram menor concentração e acúmulo de Ca, e menor acúmulo de K, sem afetar a concentração do K, indicando antagonismo entre a absorção destes nutrientes e a do Ba (SUWA et al.; 2009).

Llugany et al. (2000) propuseram que a inibição na absorção de K provocada pelo Ba é uma das principais causas da fitotoxidez de Ba no feijão, pois, devido à similaridade dos raios iônicos desses elementos, o Ba é um eficiente bloqueador dos canais transportadores de K, nutriente responsável pela indução de auxinas que agem no alongamento das células, indicando que a menor concentração de K causada pelo Ba foi provavelmente a principal causa da inibição do crescimento do feijão.

Suwa et al. (2008) verificaram drástica redução na absorção de K nas plantas expostas ao Ba de 0,1 mmol L⁻¹ na solução nutritiva por 21 dias. Também relataram que a exposição das plantas ao Ba de 5,0 mmol L⁻¹ proporcionou menor a taxa fotossintética (em 50% mais baixa), associando a inibição da absorção de K ao comprometimento do mecanismo de fechamento dos estômatos, prejudicando a fotossíntese e o crescimento das plantas. Por sua vez, Debhath e Mukherji (1982) observaram menor taxa de respiração de plantas expostas ao Ba.

No presente estudo, os acúmulos de K nas lâminas recém-expandidas e demais lâminas diminuiram mediante incremento na dose de Ba, enquanto aumentou acúmulo desse nutriente nos colmos e bainhas. Tal comportamento indica que o transporte de K nas plantas é alterado pelas doses de Ba, havendo diminuição do transporte do nutriente dos colmos e bainhas para as folhas. Assim, o desequilíbrio no transporte de K pode ter sido uma das causas do efeito prejudicial do Ba presente na solução nutritiva. Contudo, mesmo nas maiores doses de Ba, o K esteve próximo do nível crítico nas lâminas recém-expandidas, ou seja, em torno de 22 g kg⁻¹ de K na massa seca (CONSOLMAGNO NETO et al., 2007), que indica que, apesar do antagonismo entre K e Ba observado no presente estudo, a diminuição na absorção de K não foi severa suficiente para causar deficiência deste nutriente nas plantas, hipótese reforçada pela ausência de sintomas visíveis de deficiência de K.

Semelhantemente ao que ocorre com o K, a inibição competitiva entre Ca e Ba também tem sido observada em alguns estudos (LLUGANY et al., 2000; WATANABE;

OKADA, 2005), a qual também pode ser a razão do menor crescimento de plantas submetidas às altas concentrações de Ba, uma vez que o Ca possui grande importância no desenvolvimento dos tecidos meristemáticos. Monteiro et al. (2011) verificaram menor acúmulo de Ca nas folhas recém-expandidas do capim tanzânia exposto às altas concentrações de Ba. No presente estudo, o aumento da disponibilidade de Ba proporcionou menores concentração e o acúmulo de Ca nas lâminas recém-expandidas e demais lâminas, enquanto incrementou o acúmulo de Ca nos colmos e bainhas. Isto é semelhante ao observado no acúmulo de K, indicando que também houve alteração no transporte de Ca dos colmos e bainhas para as folhas. Assim como observado para o K, a inibição na absorção de Ca causada pelo Ba não foi suficientemente severa para causar deficiência do nutriente nas plantas. Entretanto, diferentemente do K, a concentração de Ca, nas lâminas recém-expandidas das plantas expostas às maiores doses de Ba esteve abaixo do nível crítico de Ca, pois a concentração de Ca nas lâminas recém-expandidas esteve em torno de $2,8 \text{ g kg}^{-1}$ de massa seca, enquanto o nível crítico de Ca está em torno de $3,5 \text{ g kg}^{-1}$ (SILVEIRA; MONTEIRO, 2010). Mesmo assim, não foram observados sintomas visuais de deficiência de Ca nas plantas, ratificando que a diminuição a absorção de menor quantidade de Ca não restringiu o crescimento das plantas.

A fitotoxidez dos metais pesados também tem sido atribuída à formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (POMPEU et al., 2008), as quais causam peroxidação lipídica nas membranas celulares, que resultam na perda da estabilidade e permeabilidade seletiva dessas membranas e comprometem o metabolismo celular das plantas. Assim, a formação de peróxido de hidrogênio (molécula precursora dos radicais livres das espécies reativas de oxigênio), e de MDA (molécula formada no processo de peroxidação lipídica), são indicadores do estresse oxidativo nas plantas.

No presente estudo, a formação de MDA na parte aérea das plantas foi maior nas combinações de altas doses de S com altas doses de Ba, que apresentaram aproximadamente entre 40 e 44 nmol g^{-1} de massa fresca nas lâminas recém-expandidas, as quais não rebrotaram após o primeiro corte e indicam que a peroxidação lipídica também pode ter sido responsável pela toxidez do Ba nas plantas. Melo et al. (2011), estudando o efeito do fornecimento de Ba na concentração do metal e de MDA nas folhas de soja (*Glycine max* L.), observaram que, apesar da concentração de Ba nas folhas aumentar consideravelmente, incrementando de aproximadamente $0,01 \text{ g kg}^{-1}$ para $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ na massa seca das folhas, a concentração de MDA nesse tecido não teve incremento. Contudo, essa concentração de Ba foi menor que a observada no presente estudo, na qual as plantas submetidas às maiores

doses de S e de Ba apresentaram mais de $4,0 \text{ g kg}^{-1}$ na massa seca da parte aérea, indicando que, apesar do incremento na concentração de MDA, o capim apresenta maior capacidade de tolerar o Ba.

As concentrações de peróxido de hidrogênio nos componentes da parte aérea do capim não foram afetadas pelas doses de S e de Ba, possivelmente devido à baixa resposta da enzima superóxido dismutase, que é responsável por converter o superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) a peróxido de hidrogênio (SHAH et al., 2001). Essa ausência de alteração na concentração do peróxido de hidrogênio pode ser responsável pelas respostas observadas nas atividades das enzimas catalase e ascorbato peroxidase, responsáveis por degradar essa molécula. Assim, tem-se observado que o aumento da concentração de peróxido de hidrogênio em decorrência da fitotoxidez causada por metais induz ao incremento da atividade dessas enzimas, o que não foi observada no presente estudo.

Após a formação do peróxido de hidrogênio, sua concentração no tecido vegetal é controlada pelas atividades de algumas enzimas como catalase, ascorbato peroxidase e guaiacol peroxidase (GILL; TUTEJA, 2010). No presente estudo, a maior atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase esteve relacionada às plantas cultivadas com baixa disponibilidade de S ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) e com doses de Ba até $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$, indicando que essas plantas podem apresentar aumento na produção de peróxido de hidrogênio, apesar desta não ter sido detectada na avaliação da concentração dessa molécula, estimulando a atividade dessas enzimas. Melo et al. (2011) verificaram pouco aumento na atividade da catalase mediante o fornecimento de Ba para a soja, sugerindo que essa enzima pode reagir ao Ba de maneira específica para cada espécie vegetal.

Por outro lado, a atividade da guaiacol peroxidase foi marcadamente aumentada pelas doses de Ba e de S, o que correspondeu às plantas que apresentaram maior concentração de MDA, e indica que o aumento da atividade dessa enzima pode ter contribuído para reduzir o estresse causado pelo Ba no tecido vegetal. Essa divergência na atividade das enzimas catalase, ascorbato peroxidase e guaiacol peroxidase pode ser explicada pelo fato da guaiacol peroxidase atuar numa faixa de concentração de peróxido de hidrogênio muito menor que as demais, o que pode ter sido insuficiente para estimular a atividade da catalase e da ascorbato peroxidase. Isto pode ser reforçado pela ausência de resposta da enzima superóxido dismutase e da concentração de peróxido de hidrogênio nos tecidos da planta.

O aumento na concentração de prolina nas plantas cultivadas com altas doses de Ba ($10,0$ e $20,0 \text{ mmol L}^{-1}$) combinadas com dose de S de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ indica que nessas plantas houve uma desregulação no metabolismo das proteínas, que pode ter sido causada tanto pela

toxidez do metal quanto pela deficiência do nutriente. Essa deficiência pode ter sido a principal causa, tendo em vista que as plantas com menores acúmulo e concentração de S apresentaram maior concentração desse aminoácido.

Em relação à glutathione redutase, a maior atividade nas plantas cultivadas com 0,1 mmol L⁻¹ de S e altas doses de Ba indica que essa atividade pode ter sido aumentada como uma estratégia das plantas para diminuir a toxidez do metal, uma vez que a glutathione é precursor da formação das fitoquelatinas. Estas podem complexar metais no tecido vegetal, diminuindo assim seu efeito prejudicial, como também pode ser em menor escala uma estratégia para o aumento da eficiência de utilização do S absorvido, uma vez que nas plantas bem nutridas nesse nutriente, a atividade da enzima foi menor, independentemente da dose de Ba aplicada.

6 CONCLUSÕES

O Ba causou desequilíbrio nutricional e estresse oxidativo nas plantas, proporcionando a morte do capim tanzânia cultivado na dose de 10,0 mmol L⁻¹. O fornecimento de S em dose mais elevada do que a necessária para atender a demanda nutricional atenuou a fitotoxidez causada por Ba no capim tanzânia, devido provavelmente à imobilização do Ba nas raízes das plantas. As enzimas do sistema antioxidante não tiveram a atividade alterada pelas doses de S e de Ba, com exceção da guaiacol peroxidase, que apresentou maior atividade nas plantas cultivadas com maiores doses do nutriente.

REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant Cell Environment**, New York, v. 24, p. 1337-1344, 2001.
- ALMEIDA, A.A.S.; MONTEIRO, F.A.; JANK, L. Avaliação de *Panicum maximum* Jacq. para tolerância ao alumínio em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 339-334, 2000.
- ANDRA, S.S.; DATTA, R.; SARKAR, D.; MAKRIS, K.C.; MULLENS, C.P.; SAHI, S.V.; BACH, S.B.H. Induction of lead-binding phytochelatins in vetiver grass [*Vetiveria zizanioides* (L.)]. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 38, p. 868-877, 2009.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. Disponível em: <[http:// www.atsdr.cdc.gov/cercla](http://www.atsdr.cdc.gov/cercla)> Acesso em: 24 mar. 2016.
- AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 104, p. 280-292, 1998.
- BATES, L.S.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, p. 205-207, 1973.
- BATISTA, B.L.; NIGAR, M.; MESTROT, A.; ROCHA, B.A.; BARBOSA, F.; PRICE, A.H.; RAAB, A.; FELDMANN, J. Identification and quantification of phytochelatins in roots of rice to long-term exposure: evidence of individual role on arsenic accumulation and translocation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, p. 1467-1479, 2014.
- BIONDI, C.M.; NASCIMENTO, C.W.A.; FABRICIO NETA, A. B. Teores naturais de bário em solos de referência do Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 35, p. 1819-1826, 2011.
- BLOCK, E.; NAGANATHAN, S.; PUTMAN, D.; ZHAO, S.H. Allium chemistry: HPLC analysis of thiosulfinates from onion, garlic, wild garlic (ramsoms), leek, scallion, shallot, elephant (great-headed) garlic, chive, and chinese chive uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 40, p. 2418-2430, 1992.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CALMAK, I.; HORST, W. J. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 83, p. 463-468, 1991.

CHAUDHRY, F.M.; WALLACE, A.; MUELLER, R.T. Barium toxicity in plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 8, p. 795-797, 1977.

CHOUDHURY, H.; CARY, R. **Barium and barium compounds**. 2009. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad33.htm>> Acesso em; 13 mar. 2016.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE -. **Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009**: dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. 2009. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiano1>> Acesso em: 13 mar. 2016.

CONSOLMAGNO NETO, D.; MONTEIRO, F.A.; DECHEN, A.R. Características produtivas do capim - tanzânia cultivado com cultivado com combinações de potássio e de magnésio. **Acta Sci. Agron.** Maringá, v. 29, p. 459-467, 2007.

COSCIONE, A.R.; BERTON, R.S. Barium extraction potential by mustard, sunflower and castor bean. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, p. 59-63, 2009.

DALLAS, C.E.; WILLIAMS, P.L. Barium: rationale for a new oral reference dose. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews**, Philadelphia, v. 4, p. 395-429, 2001.

DEBNATH, R.; MUKHERJI, S. Toxic action of barium chloride on germination, growth and metabolism of rice (*Oryza sativa* L.). **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 22, p. 203-210, 1982.

DROUX, M. Sulfur assimilation and the role of sulfur in plant metabolism: a survey. **Photosynthesis Research**, New York, v. 79, p. 331-348, 2004.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Ed. Planta, 2006. 403 p.

FAM, M.A.; DUSSEAU, M.B.; FOOKS, J.C. Drilling in mudrocks: rock behavior issues. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, New York, v. 38, p. 155-166, 2003.

FAO. **Are grasslands under threat?** Brief analysis of FAO statistical data on pasture and fodder crops. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/grass_stats/grass-stats.htm> Acesso em: 22 fev. 2016a.

FAO. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 23 fev. 2016b.

FERNÁNDEZ, R.; FERNÁNDEZ-FUEGOA, D.; BERTRANDA, A.; GONZÁLEZA, A. Strategies for Cd accumulation in *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter: role of the cell wall, non-protein thiols and organic acids. **Plant Physiology and Biochemistry**, New York, v. 78, p. 63-70, 2014.

FISCHER, S.; KÜHNLENZ, T.; THIEME, M.; SCHMIDT, H.; CLEMENS, S. Analysis of plant Pb tolerance at realistic submicromolar concentrations demonstrates the role of

phytochelatin synthesis for Pb detoxification. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 48, p. 7552-7559, 2014.

GAWEL, J.E.; TRICK, C.G.; MOREL, F.M.M. Phytochelatins are bioindicators of atmospheric metal exposure via direct foliar uptake in trees near Sudbury, Ontario Canada. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 35, p. 2108-2113, 2001.

GILABEL, A.P.; NOGUEIROL, R.C.; GARBO, A.I.; MONTEIRO, F.A. The role of sulfur in increasing guinea grass tolerance of copper phytotoxicity. **Water, Air, & Soil Pollution**, New York, v. 225, p. 1806-1816, 2014.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, p. 909-930, 2010.

GOMES, M.P.; CARVALHO, M.; CARVALHO G.S.; MARQUES, T.C.; GARCIA Q.S.; GUILHERME, L.R.; SOARES, A.M. Phosphorus improves arsenic phytoremediation by *Anadenanthera peregrina* by alleviating induced Oxidative Stress. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 15, p. 633-646, 2013.

HAVLIN, J.L.; BEATON, J.D.; TISDALE, S.L.; NELSON, W.L. **Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management**. 7th ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2005. 528 p.

HELL, R. Molecular physiology of plant sulfur metabolism. **Planta**, New York, v. 202, p. 138-148, 1997.

HERSCHBACH, C.; RENNENBERG, H. Long-distance transport of 35S-sulphur in 3-year-old beech trees (*Fagus sylvatica*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 95, p. 379-386, 1995.

HERSKOVITZ, S. Barium. In: SPENCER, P.S.; SCHAUMBURG, H.H. (Ed.). **Experimental and clinical neurotoxicology**. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2000. p. 225-226.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley: California Agriculture Experimental Station, 1950. 347 p.

INOUE, M. Phytochelatins. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campos dos Goytacazes, v. 17, p. 65-78, 2005.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Periodic table of elements**. 2013. Disponível em: <<http://iupac.org/what-we-do/periodic-table-of-elements/>> Acesso em: 26 jan. 2016.

JONES, B.D.; INGLE JR., J.D. Evaluation of redox indicators for determining sulfate-reducing and dechlorinating conditions. **Water Research**, New York, v. 39, p. 4343-4354, 2005.

- JUANG, K.W.; LEE, Y.; LAI, H.; CHEN, B. Influence of magnesium on copper phytotoxicity to and accumulation and translocation in grapevines. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 104, p. 36-42, 2014.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. 505 p.
- KELLER, C.; HAMER, D.; KAYSER, A.; RICHNER, W.; BRODBECK, M. SENNHAUSER, M. Root development and heavy metal phytoextraction efficiency: comparison of different plant species in the field. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 249, p. 67-61, 2003.
- KINNERSLEY, A.M. The role of phytochelates in plant growth and productivity. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 12, p. 207-218, 1993.
- KLABER, N.S.; BARKER, A.V. Accumulation of phosphorus and arsenic in two perennial grasses for soil remediation. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 45, p. 810-818, 2014.
- KLECKEROVA, A.; SOBROVA, P.; KRYSTOFOVA, O.; SOCHOR, J.; ZITKA, O.; BABULA, P.; ADAM, V.; DOCEKALOVA, H.; KIZEK, R. Cadmium (II) and zinc (II) ions effects on maize plants revealed by spectroscopy and electrochemistry. **International Journal of Electrochemical Science**, Belgrade, v. 6, p. 6011-6031, 2011.
- KOPRIVA, S.; RENNENBERG, H. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, p. 1831-1842, 2004.
- KRÄMER, U. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils. **Current Opinion in Biotechnology**, New York, v. 16, p. 133-141, 2005.
- KRAUS, T.E.; MCKERSIE, B.D.; FLETCHER, R.A. Paclobutrazol-induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. **Journal of Plant Physiology**, New York, v. 145, p. 570-576, 1995.
- KRAVCHENKO, J.; DARRAH, T.H.; MILLER, R.K.; LYERLY, H.K.; VENGOSH, A. A review of the health impacts of barium from natural and anthropogenic exposure. **Environmental Geochemistry and Health**, New York, v. 36, p. 797-814, 2014.
- KUPERMAN, R.G.; CHECKAL, R.T.; SIMINI, M.; PHILLIPS, C.I.; SPEICHER, J.A. BARCLIFT, D.J. Toxicity benchmarks for antimony, Ba and beryllium determined using reproduction endpoints for *Folsomia candida*, *Eisenia fetida* and *Enchytraeus crypticus*. **Environmental Toxicity and Chemistry**, New Jersey, v. 25, p. 754-762, 2006.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.
- LAMB, D.T.; MATANITOBUA, V.P.; PALANISAMI, T.; MEGHARAJ, M.; NAIDU, R. Bioavailability of barium to plants and invertebrates in soils contaminated by barite. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 47, p. 4670-4676, 2013.

LARSSON, C.M.; LARSSON, M.; PURVES, J.V.; CLARKSON, D.T. Translocation and cycling through roots of recently absorbed nitrogen and sulfur in wheat (*Triticum aestivum*) during vegetative and generative growth. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 82, p. 345-352, 1991.

LEÃO, G.A.; OLIVEIRA, J.A.; FARNESE, F.S.; GUSMAN, G.S.; FELIPE, R.T.A. Sulfur metabolism: Different tolerances of two aquatic macrophytes exposed to arsenic. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 105, p. 36-42, 2014.

LIMA, E.S.A.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; MAGALHÃES, M.O.L.; GUEDES, J.N.; ZONTA, E. Absorção de bário por plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) e mobilidade em solo tratado com baritina sob diferentes condições de potencial redox. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, p. 1746-1751, 2012.

LITTELL, R.C.; MOTT, G.O. Computer assisted design and analysis of response surface experiments in agronomy. **Soil and Crop Society of Florida Proceedings**, Ona, v. 34, p. 94-97, 1975.

LLUGANY, M.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Assessment of barium toxicity in bush beans. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 39, p. 440-444, 2000.

MACHADO-ESTRADA, B.; CALDERON, J.; MORENO-SANCHEZ, R.; RODRIGUEZ-ZAVALA, J.S. Accumulation of arsenic, lead, copper, and zinc, and synthesis of phytochelators by indigenous plants of a mining impacted area. **Environmental Science and Pollution Research**, New York, v. 20, p. 3946-3955, 2013.

MAGALHÃES, M.O.L.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; ZONTA, E.; CARVALHO, M.M.; TOLÓN-BECERRA, A. Effect of variations in the redox potential of Gleysol on barium mobility and absorption in rice plants. **Chemosphere**, New York, v. 89, p. 121-127, 2012.

MAGALHÃES, M.O.L.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; ZONTA, E.; LIMA, L.S.; PAIVA, F.S.D. Mobilidade de bário em solo tratado com sulfato de bário sob condição de oxidação e redução. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, p. 1544-1549, 2011.

MAGALHÃES, M.O.L.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; ZONTA, E.; BECERRA, A. T.; LASTRA-BRAVO, X.B.; COUTINHO, I.B. Reducing conditions on barium absorption in rice plants cultured in BaSO₄ enriched soil. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 36, p. 119-127, 2014.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

MALINA, G. Ecotoxicological and environmental problems associated with the former chemical plant in Tarnowskie Gory, Poland. **Toxicology**, New York, v. 205, p. 157-172, 2004.

MARQUES, M.O.; MELO, W.J.; MARQUES, T.A. Metais pesados e o uso de biossólidos na agricultura. In: TSUTIYA, M.T.; COMPARINI, J.B.; ALEM SOBRINHO, P.;

HESPANHOL, I.; CARVALHO, P.C.T.; MELFI, A.J.; MELO, W.J.; MARQUES, M.O. (Ed.). **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, 2001. p. 365-403.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Elsevier, 1995. 643 p.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 13, p. 1091-1101, 1972.

MELO, L.C.A.; ALLEONI, L.R.F.; CARVALHO, G. Cadmium and barium toxicity effects on growth and antioxidant capacity of soybean (*Glycine max* L.) plants, grown in two soil types with different physicochemical properties. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, New York, v. 174, p. 847-859, 2011.

MELTON, H.R.; SMITH, J.P.; MARTIN, C.R.; NEDWED, T.J.; MAIRS, H.L.; RAUGHT, D.L. **Offshore discharge of drilling fluids and cuttings** - a scientific perspective on public policy. Rio de Janeiro: IBP, 2000. 13 p.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of plant nutrition**. Dordrechth: Kluwer Academic, 2001. 849 p.

MINOLTA CAMARA. **Manual for chlorophyll meter Spad -502**. Osaka, 1989. 22 p.

MINTON, G.A.; WILSON, R.H. The effect of Ba ions on the growth and mitochondrial metabolism of mung bean seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, p. 611-617, 1973.

MONNIN, C.; DUPRE, C.G.; ELDERFIELD, H.; MOTTTL, M.M. Barium geochemistry in sediment pore waters and formation waters of the oceanic crust on the eastern flank of Juan de Fuca Ridge (ODP Leg 168). **Geochemistry, Geophysics, Geosystems**, New York, v. 2, p. 15-21, 2001.

MONSANT, A.C.; WANG, Y.; TANG, C. Nitrate nutrition enhances zinc hyperaccumulation in *Noccaea caerulescens* (Prayon). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 336, p. 391-404, 2010.

MONTEIRO, F.A.; CARRIEL, J.M. Aplicação de níveis de enxofre na forma de gesso para o cultivo do capim-Colonião em dois solos arenosos do Estado de São Paulo. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 44, p. 335-347, 1987.

MONTEIRO, F.A.; NOGUEIROL, R.C.; MELO, L.C.A.; ARTUR, A.G.; ROCHA, F. Effect of barium on growth and macronutrient nutrition in Tanzania guineagrass grown in nutrient solution. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 42, p. 1510-1521, 2011.

NEFF, J.M. Estimation of bioavailability of metals from drilling mud barite. **Integrated Environmental Assessment and Management**, New York, v. 4, p. 184-193, 2008.

NOGUEIRA, T.A.R.; MELO, W.J.; FONSECA, I.M.; MARQUES, M.O.; HE, Z. Barium uptake by maize plants as affected by sewage sludge in a long-term field study. **Journal of Hazardous Materials**, New York, v. 181, p. 1148-1157, 2010.

PÉREZ, D.V.; SALDANHA, M.F.C.; MENEGUELLI, N.A.; MOREIRA, J.C. VAITSMAN, D.S. **Geoquímica de alguns solos brasileiros**. Rio de Janeiro: CNPS, 1997. 14 p.

PHILLIPS, E.J.P.; LANDA, E.R.; KRAEMER, T.; ZIELINSKI, R. Sulfate-reducing bacteria release barium and radium from naturally occurring radioactive material in oilfield barite. **Geomicrobiology Journal**, Philadelphia, v. 18, p. 167-182, 2001.

PICHTEL, J.; KUROIWA, K.; SAWYERR, H.T. Distribution of Pb, Cd and Ba in soils and plants of two contaminated sites. **Environmental Pollution**, New York, v. 110, p. 171-178, 2000.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 15-39, 2005.

POMPEU, G.B.; GRATÃO, P.L.; VITORELLO, V.A.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant isoenzyme responses to nickel-induced stress in tobacco cell suspension culture. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 548-552, 2008.

POZEBON, D.; LIMA, E.C.; MAIA, S.M.; FACHEL, J.M.G. Heavy metals contribution of non-aqueous fluids used in offshore oil drilling. **Fuel**, New York, v. 84, p. 53-61, 2005.

RABELO, F.H.S. **Enxofre na atenuação dos efeitos tóxicos do cádmio no capim-tanzânia**. 2014. 104 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

RUSSELL, T.J. Additives influencing diesel/kerosene fuel combustion. In: OWEN, K. (Ed). **Gasoline and diesel fuel additives: critical reports on applied chemistry**. Chichester: Wiley, 1989. p. 65-104.

SAITO, K. Sulfur assimilatory metabolism, the long and smelling road. **Plant Physiology**, Rockville, v. 136, p. 2443-2450, 2004.

SANTOS, A. R. **Diagnose nutricional e respostas do capim-Braquiária submetido a doses de nitrogênio e enxofre**. 1997. 115 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

SANTOS, P.M.; COSTA, R.Z.M. **Manejo de pastagens tropicais**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006. 26 p.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 54 p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT: user's guide**, version 8.0. Cary, 2000.

SAVIDAN, Y.H.; JANK, L.; COSTA, J.C.G. **Registro de 25 acessos selecionados de *Panicum maximum***. Campo Grande: Embrapa, 1990. 68 p.

SCHMIDT, F.; MONTEIRO, F. Sulphur supply affects morphology, growth and nutritional status of Tanzania Guinea grass and Mineirão stylo. **Grass and Forage Science**, New York, v. 70, p. 439-450, 2014.

SCHMIDT, F.; BONA, F.D.; MONTEIRO, F.A. Sulfur limitation increases nitrate and amino acid pools in tropical forages. **Crop & Pasture Science**, Clayton, v. 64, p. 51-60, 2013.

SCHULZ, H.; HÄRTLING, S.; TANNEBERG, H. The identification and quantification of arsenic-induced phytochelatins: comparison between plants with varying As sensitivities. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 303, p. 275-287, 2008.

SHAH, K.; KUMAR, R.G.; VERMA, S.; DUBEY, R.S. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Science**, Shannon, v. 161, p. 1135-1144, 2001.

SILVEIRA, C.P.; MONTEIRO, F.A. Influência da adubação com nitrogênio e cálcio nas características morfológicas e produtivas das raízes de capim-tanzânia cultivado em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 47-52, 2011.

SPISSO, A.A.; CERUTTI, S.; SILVA, F.; PACHECO, P.H.; MARTINEZ, L.D. Characterization of Hg-phytochelatins complexes in vines (*Vitis vinifera* cv. Malbec) as defense mechanism against metal stress. **BioMetals**, New York, v. 27, p. 591-599, 2014.

SUWA, R.; JAYACHANDRAN, K.; NGUYEN, N.T.; BOULENOUAR, A.; FUJITA, K.; SANEOKA, H. Barium toxicity effects in soybean plants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 55, p. 397-403, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Toxicological profile for barium and barium compounds**. Washington, 2007. 231 p.

VÁZQUEZ, F.M.; ANTA, R.C. **Niveles genéricos de metales pesados y otros elementos traza em suelos de Galicia**. Galicia: La Ibérica, 2009. 229 p.

WALLACE, A.; ROMNEY, E.M. Some interactions of Ca, Sr and Ba in plants. **Agronomy Journal**, Madison, v. 63, p. 245-248, 1971.

WANG, W. Site-specific barium toxicity to common duckweed, *Lemna minor*. **Aquatic Toxicology**, New York, v. 12, p. 203-212, 1988.

WATANABE, T.; OKADA, K. Interactive effects of Al, Ca and other cations on root elongation of rice cultivars under low pH. **Annals of Botany**, Oxford, v. 95, p. 379-385, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Barium**: health and safety guide. 1991. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg046.htm>> Acesso em: 25 fev. 2016.

ZHANG, P.; BRADY P.V.; ARTHUR, S.E.; ZHOU, W.; SAWYER, D.; HESTERBERG, D.A. Adsorption of barium (II) on montmorillonite: an EXAFS study. **Colloids and Surfaces. A. Physicochemical and Engineering Aspects**, New York, v. 190, p. 239-249, 2001.

ZHANG, X.; UROIC, M.K.; XIE, W.; ZHU, Y.; CHEN, B.; MCGRATH, S.; FELDMANN, J.; ZHAO, F. Phytochelatins play a key role in arsenic accumulation and tolerance in aquatic macrophyte *Wolffia globosa*. **Environmental Pollution**, New York, v. 165, p. 18-24, 2012.