

EFEITOS DE DOSES CRESCENTES DE FERTILIZANTE
NITROGENADO NA ATIVIDADE DA NITRATO REDUTASE,
NA PRODUÇÃO E RENDIMENTO DO CAFÉ
(*Coffea arabica* L.) cv. 'MUNDO NOVO'

PAULO AFONSO CLAUDINO PEDROSO

Prof. Dr. OSWALDO PEREIRA GODOY
Orientador

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura "Luiz de Queiroz", da
Universidade de São Paulo, para obtenção
do grau de Mestre em Fitotecnia.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
1977

HOMENAGEM

em memória de meu pai,
à minha mãe e
meus irmãos

À minha esposa
MEIGA
e a minhas filhas
Stael e Paola

DEDICO

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Prof. Dr. OSWALDO PEREIRA GODOY, pela orientação, incentivo e amizade.

Ao CNPq, pelo auxílio através de bolsa concedida, tornando possível a realização deste trabalho.

Aos professores, Dra. MARIA AMÁLIA BRUNINI KANESIRO, Dr. RAUL DE SOUZA FALEIROS e Dr. IVOR BERGEMANN DE AGUIAR, pelas sugestões apresentadas.

A Dra. LISETI DINIZ RIBAS CASAGRANDE, pela revisão do texto.

Ao Eng^o Agr^o JOSÉ CARLOS SABINO, pelo auxílio na instalação e condução do experimento.

À MARIA BENEDITA DONADON, pelos serviços de datilografia.

Aos docentes do Departamento de Agricultura e Horticultura da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, pela atenção, amizade e dedicação para o bom desempenho do curso.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Pág.
LISTA DE QUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 - Atividade da enzima nitrato redutase	3
2.2 - Adubação nitrogenada em café	9
3. MATERIAL E MÉTODO	16
3.1 - Instalação da cultura	16
3.2 - Delineamento experimental	17
3.3 - Adubação nitrogenada	18
3.4 - Dados meteorológicos ocorridos durante a fase de campo	19
3.5 - Atividade da nitrato redutase	19
3.5.1 - Coleta de fôlhas para análise	19
3.5.2 - Determinação da nitrato redutase em amostras de tecido foliar do cafeeiro	20
3.6 - Efeito da adubação nitrogenada na produção e rendimento de café	21
3.6.1 - Avaliação da produção	21
3.6.2 - Avaliação do rendimento	22
3.7 - Esquema da análise de variância	23
4. RESULTADOS	24
4.1 - Determinação da atividade da nitrato redutase	24
4.1.1 - Padronização do método	24
4.1.2 - Determinação da atividade nitrato redutase em amostras de tecido foliar de café	25

	Pág.
4.2 - Produção de Café	27
4.3 - Rendimento do café em côco	29
5. DISCUSSÃO	32
5.1 - Atividade da nitrato redutase	32
5.2 - Efeitos da adubação nitrogenada na produção e rendimento do café colhido	39
6. CONCLUSÃO	42
7. RESUMO	44
8. SUMMARY	46
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
10. ANEXO	55

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	- Resultados analíticos da amostra de solo, coletada na área de instalação do experimento	17
2	- Doses de adubo nitrogenado aplicados por cova de café	18
3	- Esquema da análise de variância	23
4	- Valores médios de absorbância, obtidos da determinação volumétrica do íon <u>nitrito</u> na presença do íon <u>nitrato</u>	24
5	- Médias da atividade da <u>nitrato</u> redutase expressa em μg de N-nitrito/g de tecido fresco/hora	26
6	- Médias da produção de café em côco em kg por tratamento, nas duas colheitas	29
7	- Médias do rendimento de café em côco (<u>gramas</u> /litro)	31

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	- Médias da atividade da nitrato redutase referentes à 1. ^a e 2. ^a amostragem	28
2	- Médias da produção de café em côco referentes a 1. ^a e 2. ^a colheita	30

1. INTRODUÇÃO

As fontes de nitrogênio para a biossíntese de proteínas em plantas podem ser classificadas em três grupos: nitrogênio gasoso, aproveitado pelas plantas mediante o concurso de microorganismos no solo, nitrogênio inorgânico, fonte mais comum, e nitrogênio orgânico. As formas de nitrogênio inorgânico, comumente empregadas em plantas, são os fertilizantes sulfato de amônio e nitrato de amônio.

O nitrato assimilado pelo vegetal sofre uma série de reduções, no sentido de fornecer finalmente amônia que é incorporada a esqueletos carbônicos, transformando-se em aminoácidos utilizáveis na biossíntese de proteínas.

A redução do nitrato à amônia é um processo que ocorre em várias fases, sendo a primeira a redução do nitrato a nitrito, pela ação catalítica da nitrato redutase, a qual desempenha, portanto, papel importante no metabolismo dos vegetais, uma vez que é um dos componentes do sistema responsável pelo suprimento de amônia para a síntese

se dos aminoácidos.

Sendo a nitrato redutase um fator regulador da fonte de amônia, é importante estudar o comportamento, em todas as fases do ciclo da planta, com a finalidade de se correlacionar a atividade enzimática e a demanda de nitrogênio reduzido.

Por outro lado, tão importante quanto avaliar a quantidade de nitrogênio absorvido, é verificar o comportamento da planta em função dessas quantidades absorvidas. Para tanto, torna-se necessário estudar a influência da fertilização nitrogenada no desenvolvimento vegetativo, frutificação e produção da planta considerada.

O nitrogênio é um elemento importante para o cafeeiro, visto que o seu efeito é evidenciado no desenvolvimento vegetativo, principalmente na formação abundante de folhas e ramos como também na frutificação.

A importância do nitrogênio é realçada ainda pelo fato de sua utilização representar maior custo unitário, quando comparado com os demais elementos, e também como por tratar-se do elemento que condiciona maiores respostas nos ensaios de adubação.

Portanto, considerando esses aspectos, foi planejado e executado o presente trabalho, com o objetivo de verificar os efeitos da adubação nitrogenada, através de doses crescentes de fertilizante nitrogenado, na atividade da nitrato redutase, na produção e rendimento do cafê.

2. REVISAO DE LITERATURA

Consultando a literatura especializada, encontrou-se os seguintes trabalhos relacionados com a presente pesquisa:

2.1 - Atividade da enzima nitrato redutase

Uma das formas de nitrogênio mais comumente usada pelas plantas superiores é o nitrato e para a sua utilização, é necessário que seja reduzido a amônia (NEPTUNE MÉNARD e CROCOMO, 1962).

O nitrato assimilado pelo vegetal sofre uma série de reduções no sentido de fornecer finalmente amônia que é incorporada a esqueletos carbônicos, transformando -se em aminoácidos utilizáveis na biossíntese de proteínas (BANDURSKY, 1965).

Na redução de nitrato a amônia e posterior aproveitamento desta para a biossíntese de aminoácidos, participa um sistema multienzimático onde a primeira reação desse complexo é a redução de nitrato a nitrito, sendo esta redução catalizada por uma enzima denominada nitrato re

nutase, caracterizada em soja e *Neurospora* por EVANS e NA
SON (1953). Desse sistema enzimático fazem parte o nucleo
tídeo de piridina reduzido (NADPH ou NADH) como doador de
eletrons, dinucleotídeo de adenina (FAD) como grupo pro
tético e o molibdênio como ativador. Devido ao fato do
molibdênio aparecer no processo como ativador da enzima,
parece ser esta a razão pela qual o mesmo é necessário às
plantas; em plantas deficientes de molibdênio, o nitrato
não pode ser reduzido e então surge uma deficiência apa
rente de nitrogênio (RAY, 1971).

BONNER e GALSTON (1967), estudando a redução do
nitrato em plantas superiores, observaram que esta se dá em
quase todas as espécies estudadas, como as maçãs, ocorre
quase que exclusivamente nas raízes. Entretanto, em outras
plantas superiores, somente parte do nitrato é reduzido
nas raízes enquanto a outra parte se transforma nas folhas.

A conversão do nitrato absorvido em amônia e,
em seguida, em nitrogênio amínico, normalmente ocorre nas
raízes quase tão rapidamente quanto o nitrato é absorvido,
de acôrdo com RAY (1971).

A nitrato redutase é considerada uma enzima
substrato induzível (HEWITT e AFRIDI, 1959 e BEEVERS et
alii, 1965), como também é induzível pela luz (HARPER e
PAULSEN, 1968).

Trabalhando com couve-flor cultivada assepti
camente, AFRIDI e HEWITT (1964) observaram que não havia
atividade da nitrato redutase quando a amônia era usada co
mo fonte de nitrogênio; entretanto a atividade da enzima a
parecia e aumentava com a adição de nitrato ao meio de cul
tura.

KLEPPER et alii (1971) verificaram que o for
necedor do cofator reduzido (NADH) para a redução do nitra
to é a desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato, sendo os
fosfatos de açúcares produzidos pela fotossíntese, o subs

trato para a ação da nitrato redutase.

Além da presença do nitrato, a presença de outros fatores, como a luz, CO_2 , macro e micronutrientes, são também importantes na formação da nitrato redutase.

Aslam et alii (1973), citados por KANESIRO (1976), estudando a importância da fotossíntese e da respiração na indução da atividade da nitrato redutase, verificaram que, quando glicose era adicionada ao meio de incubação para determinação da atividade enzimática, em plantas cultivadas na ausência de luz, havia uma restauração da atividade enzimática. Segundo esses autores, o papel da luz na indução da atividade da nitrato redutase está relacionada com a fotossíntese. Ainda com relação a esse problema, trabalho de Travis et alii (1970) indicou que os açúcares formados pela fotossíntese são essenciais para a indução da nitrato redutase, enquanto que Sluifers Scholten (1975) verificou que a indução da nitrato redutase e da nitrito redutase, em folhas de feijoeiro, é influenciada pela presença de equivalentes de redução formados na fotossíntese, enquanto que a ausência destes diminui a atividade da enzima citada.

KLEPPER et alii (1971) estabeleceram uma relação entre a nitrato redutase e a oxidação de carboidratos em plantas desenvolvidos na presença de carboidratos: para cada molécula de nitrato reduzida, uma de carboidrato deve estar disponível para a produção de esqueleto carbônico para a biossíntese de aminoácidos.

Além do nitrato e da luz, vários macro e micronutrientes tem efeito sobre a atividade da nitrato redutase.

HARPER e PAULSEN (1969), estudaram a assimilação de macronutrientes em plântulas de trigo e observaram que a atividade da nitrato redutase decresceu com a deficiência

ciência dos elementos estudados. As deficiências de nitrato e cálcio provocaram uma diminuição maior, em relação à deficiência dos outros nutrientes. Relativamente altos níveis de nitrato e fósforo são necessários para manter o máximo da atividade da nitrato redutase, enquanto que baixos níveis de outros nutrientes são necessários para se atingir valores próximos do ótimo da atividade da enzima. O nível de nitrato nas folhas diminuiu com a deficiência de todos os macronutrientes, exceto o enxofre. Foi observado que a deficiência de nitrato apresentou o maior efeito enquanto a falta de cálcio, magnésio, fósforo e potássio também afetaram a atividade da nitrato redutase, diminuindo a atividade da enzima.

PAULSEN e HARPER (1968) constataram que a deficiência de cálcio, em plântulas de trigo, acumulou excepcionalmente altos níveis de nitrito e por outro lado, causou uma repressão da síntese da nitrato redutase. Os autores sugerem que a acumulação de nitrito não foi devida a algum efeito da deficiência de cálcio na redutase do nitrito, mas à inibição do transporte intracelular do nitrito, causada por esta deficiência.

Já em relação à influência dos micronutrientes na atividade da nitrato redutase, HARPER e PAULSEN (1969a) também em plântulas de trigo, observaram que esta enzima é a mais sensível do que as outras à deficiência de micronutrientes. Deficiências de zinco, molibdênio e cloro afetaram a nitrato redutase, diminuindo a atividade da enzima. As deficiências de manganês e cobre diminuíram a atividade da enzima, mas não significativamente; a deficiência de boro não teve efeito enquanto a deficiência de ferro foi considerada inconsistente. Desta forma, o teor de nitrato nas plântulas diminuiu com a deficiência de zinco, aumentou com a deficiência de molibdênio e não foi afetado pelos outros micronutrientes.

Hageman et alii (1962), citados por FALEIROS (1973), consideram a nitrato redutase como um fator que regula a fonte de nitrogênio reduzido, entretanto, Schrader et alii (1966) afirmam que ela não deve necessariamente ser considerada como um índice de crescimento, isto porque o produto final da redução do nitrato - a amônia - é tóxico e qualquer excesso de amônia, devido à alta atividade da nitrato redutase, poderá ser desviada para a formação de amidas ou reserva similar de nitrogênio.

A determinação da atividade da nitrato redutase "in vitro" é um processo trabalhoso e que requer aparelhagem mais sofisticada, tornando o processo impróprio para a análise em grande quantidade de amostras, enquanto que a determinação "in vivo", isto é, usando-se fragmentos de folhas, é bem mais simples e de fácil execução, possibilitando a análise simultânea de várias amostras. Além disso, segundo STREETER e BOSLER (1972), o método para a determinação da atividade da nitrato redutase "in vivo" é mais eficiente que o método que usa extrato "in vitro".

O processo da determinação da atividade da nitrato redutase geralmente consiste na dosagem do nitrito formado pela redução do nitrato, na unidade de tempo. A atividade enzimática pode ser determinada em extratos de folhas adicionais de cofatores apropriados, ou fragmentos de folhas. Em ambos os casos, após a incubação, o nitrito formado é medido colorimetricamente. Baseados nesse princípio, autores como MULDER et alii (1959), BAR-AKIVA e STERNBAUN (1965a), BAR-AKIVA et alii (1967 e 1970) SHAKED e BAR-AKIVA (1967), KLEPPER et alii (1971), FALEIROS (1973) LIBRANDI (1975), KANESHIRO (1976), NICHOLAS et alii (1976) desenvolveram trabalhos estudando a atividade da enzima em diferentes plantas.

Segundo BAR-AKIVA e STERNBAUN (1965b), o uso

da análise foliar, como um guia para a nutrição mineral em citros, é atualmente uma operação largamente difundida. Porém uma das principais limitações da utilização da mesma é que ela é deficiente para distinguir entre os íons bioquimicamente ativos dos relativamente inativos, na quantidade total do elemento.

É certo que, pela determinação de todas as atividades de um elemento na célula da planta, pode-se aumentar a eficiência dos resultados da análise da planta no campo.

Seguindo esta linha, BAR-AKIVA e STERNBAUN (1965 a) testaram a conveniência da utilização da nitrato redutase como um meio de se avaliar a necessidade de nitrogênio em citros, determinando a atividade da enzima em folhas, e verificaram que as diferenças da atividade enzimática, no caso nitrato redutase em folhas de citros, devidas aos vários níveis de fertilizantes nitrogenados aplicados, foram sempre mais pronunciadas do que as diferenças dos valores de nitrogênio total determinados.

BAR-AKIVA et alii (1967), em experimento de adubação em citros (Grapefruit), utilizando como tratamentos três níveis de adubos nitrogenados, com e sem adubação fosfatada, com e sem aplicação de estêrco de galinha durante cinco anos desde a implantação do pomar, determinaram a atividade da nitrato redutase em fragmento de folhas colhidas no verão, dos diversos tratamentos empregados, a fim de estudar a influência dos teores de nitrogênio nas folhas e a produção subsequente. Os autores encontraram uma correlação positiva significativa entre a atividade da nitrato redutase e a produção, como também encontraram uma relação inversa entre o teor de nitrogênio total das folhas e a produção.

Finalmente, BAR-AKIVA et alii (1970) usaram a

capacidade de redução de nitrato em *Lolium multiflorum*, como um meio de avaliação da necessidade de nitrogênio na fertilização. Verificaram que a produção aumentava com o aumento da concentração do nitrogênio, mas somente até certo ponto. A adição de quantidades maiores de nitrogênio ao solo acumulava nitrato nas folhas, aumentando a atividade da nitrato redutase, sem entretanto aumentar a produção.

2.2 - Adubação nitrogenada em café

O desgaste do solo provocado pelo cultivo continuado do cafeeiro em um mesmo local é bastante grande, conforme VAGELER (1935), que avaliou as perdas de elementos nutritivos em solos de terra roxa virgem. Verificou que após 22 anos de exploração com a cultura de café, esse mesmo solo apresentou uma redução de 50% de nitrogênio, 37% de fósforo, 93% de potássio, 80% de cálcio, 85% de magnésio em relação àquele solo ainda virgem.

GALLO et alii (1967) fizeram um levantamento do estado nutricional de cafezais do Estado de São Paulo, pela análise foliar em solo do tipo Massapê-Salmourão. Foram colhidas amostras de folhas para análise de 07 cafezais em 20 municípios, compreendendo as variedades 'Mundo Novo', 'Bourbon Vermelho' e 'Caturra', entre 5 e 10 anos de idade. Levando-se em conta a época, para cada elemento, em que o teor foi significativamente mais baixo ou mostrou tendência a ser mais baixo, ficou evidenciado que o nitrogênio foi o elemento mais deficiente em 98,2% das lavouras levantadas.

Em trabalho complementar, GALLO et alii (1970) fizeram levantamento de cafezais do Estado de São Paulo, pela análise química foliar em solos Podzolizados de Lins

e Marília, Latossol roxo e Podzólico vermelho amarelo-orto em amostras de 134 cafezais distribuídos pelo Estado, sendo as amostras coletadas em três estações do ano (verão, outono e primavera). Ficou também constatado que o nitrogênio é o elemento mais deficiente em todos os tipos de solos onde se procedeu o levantamento: em solos Podzolizados de Lins e Marília, 93,9%. em Latossol roxo, 83,4%, em Podzólico vermelho amarelo-orto, 95,3% das propriedades levantadas apresentaram teores baixos ou deficitários de nitrogênio.

De acordo com levantamento feito pelo Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, realizado por HIROCE (1974) sobre a situação nutricional das zonas cafeeiras do estado, fazendo-se um balanço das amostras de folhas de 600 cafezais, analisados entre 1966 e 1973, o autor observou que entre os macronutrientes, o nitrogênio constitui-se o mais carente, nas lavouras comerciais de café, cerca de 70% das amostras apresentaram níveis insuficientes ou baixos.

Quando o solo não é bastante rico em matéria orgânica mineralizável ou não se emprega uma dosagem adequada de nitrogênio na adubação, a deficiência aparece comumente. Os sintomas são intensos no período de crescimento dos frutos. As folhas formadas nessas condições são geralmente menores; primeiramente as mais velhas e depois as mais novas mostram uma clorose uniforme da lâmina; as nervuras também se tornam amareladas ou esbranquiçadas. Quando a falta de nitrogênio é muito aguda, as folhas mostram-se quase brancas e entram em necrose. O desfolhamento dos galhos é comum nesses casos. Como estágio final de deficiência, tem lugar a morte dos ramos portadores de frutos; os ramos começam a secar da ponta para a base ("Die back", secamento de ponteiros). Há dois fatores que con

tribuem para acentuar a severidade da deficiência de nitrogênio: um período de seca intensa e uma carga de frutos muito pesada. A falta de umidade pode também impedir a entrada dos nitratos na planta com intensidade suficiente ou diminuir sua produção através da paralização na mineralização da matéria orgânica (MALAVOLTA et alii, 1974).

SAMUELS (1957) realça que o cafeeiro exige nutrientes tanto para a formação de frutos como para o novo crescimento da planta, visando a colheita seguinte. Tendo em vista o exposto, verifica-se que é fácil determinar as exigências com relação à extração resultante da colheita; por outro lado, torna-se difícil quando se pensa em termos de desenvolvimento vegetativo, principalmente em relação ao nitrogênio, elemento mais diretamente ligado a esses processos.

CATANI e MORAES (1958) relataram os resultados de trabalho no qual foram estudadas as variações nas quantidades de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio nas raízes, tronco, galhos, folhas e frutos, no curso de 1 a 5 anos de idade da variedade 'Bourbon Vermelho', cultivado em "terra roxa misturada" no Estado de São Paulo. Os autores verificaram que nos ramos, tronco e raiz, a variação na concentração dos elementos não foi tão pronunciada quanto a das folhas e frutos, e, também não seguiu uma periodicidade tão perceptível quanto no caso das folhas e frutos. As quantidades médias de elementos retirados por uma planta (admitindo-se 3 cafeeiros numa cova como uma planta), com 5 anos de idade no campo, foram 11,5g de N, 16,4g de P_2O_5 , 121,3g de K_2O , 77,1g de CaO e 23,5g de MgO. É interessante observar que de 2 1/2 para 3 1/2 anos, as exigências minerais do cafeeiro duplicam, o que se deve quase que exclusivamente ao início da produção de grãos. Da quantidade total de elementos removidos, as porcentagens

seguintes estavam contidas nos frutos produzidos por uma planta com 5 anos: 28,2% de N, 31,2% de P_2O_5 e 34,7% de K_2O . Considerando-se os dados relativos ao 5º ano, torna-se claro que os grãos de café são responsáveis por aproximadamente 1/3 das exigências minerais do cafeeiro em produção. Como só parte dessas quantidades pode retornar à lavoura na forma de palha ou polpa, torna-se evidente a necessidade de devolver aos solos, como fertilizantes, os elementos exportados pela colheita.

CATANI et alii (1967) determinaram a variação na concentração e na quantidade de macro e micronutrientes, no período de desenvolvimento dos frutos de cafezais em solo do tipo "latossol roxo". Os autores verificaram que os teores de todos os macro e micronutrientes apresentaram uma tendência de declínio na concentração, de acordo com o desenvolvimento do fruto. Observaram também que os frutos do cafeeiro absorvem continuamente todos os macronutrientes durante todo o seu desenvolvimento e que o potássio e o nitrogênio foram os elementos solicitados em maior quantidade, contribuindo respectivamente com 52% e 34% da quantidade total de macronutrientes absorvidos, seguindo-se o cálcio, fósforo, enxofre e magnésio.

MORAES e CATANI (1964) estudaram a absorção de elementos minerais pelo fruto do cafeeiro, durante a sua formação em cafeeiros da variedade Nacional de 40 anos de idade, instalado em solo do tipo "terra roxa misturada" da região de Campinas. Os autores determinaram as porcentagens de substâncias acumuladas relativamente aos totais encontrados no final da maturação relativo ao 6º e 7º meses após o florescimento, e encontraram os seguintes valores nos frutos; matéria seca: 43%, nitrogênio 49%, fósforo 36%, potássio 39%, realçando a maior porcentagem de nitrogênio absorvido.

LOUÉ (1958) efetuou observações extensivas no campo e em solução nutritiva de culturas de café Robusta e estabeleceu o seguinte critério quanto aos níveis de nitrogênio total nas folhas: entre 2,8 e 3,0% de N na 3^a ou 4^a folhas, as plantas necessitam de fertilizante nitrogenado. Plantas com 2,5 a 2,8% de N necessitam ainda mais fertilizante nitrogenado. Entre 1,8 a 2,5% de N, as plantas podem apresentar coloração verde pálida nas fôlhas. Com esses níveis, durante a estação de crescimento ativo, as plantas são extremamente deficientes, enquanto que os mesmos níveis na estação da seca, podem indicar apenas deficiência moderada. Um nível ao redor de 1,5% de N nas fôlhas corresponde, segundo o autor, a sintomas extremos de deficiência.

MALAVOLTA et alii (1958) indicaram, com base nos resultados obtidos em ensaio fatorial N, P e K, em solo pobre, que, para colheitas elevadas, as terceiras folhas colhidas no outono (abril) devem apresentar pelo menos 2,8% de N. Nos tratamentos que não receberam fertilizante nitrogenado (cujas folhas apresentavam teor ao redor de 2,18% de N), a produção de café foi de apenas 63% em relação ao tratamento que recebeu fertilizante nitrogenado.

Já HAAG e MALAVOLTA (1969) estabeleceram níveis de N para fôlhas de *Coffea arabica* L., indicando que níveis ao redor de 2% de N nas folhas são considerados deficientes, 3% teor de N adequado e teor de N 4%, muito alto.

Foi sugerida e utilizada em trabalho realizado por GALLO e HIROCE (1965) a possibilidade do uso do nitrogênio na forma nítrica, determinado na planta através da análise foliar como um índice de nível de nitrogênio nas folhas, para diagnose da nutrição nitrogenada em café. Os autores encontraram em amostras colhidas no verão (ja

neiro e fevereiro), um teor médio de N-nítrico que variou de 121 a 503 ppm, estando o maior nível associado à maior produção do cafezal, isto referente a dados dos anos de 1962 e 1963.

GALLO et alii (1971), em ensaio fatorial com cafeeiro cultivar 'Mundo Novo', conduzidos na Secção de Café do Instituto Agronômico de São Paulo, em Campinas, em solo Latossol Roxo, determinaram, os teores de N-total e N-nítrico em folhas representativas de cada tratamento, para avaliação da deficiência da fertilização nitrogenada. Os resultados médios de todos os tratamentos, reunidos em função das dosagens empregadas em seis amostragens, demonstraram que nos meses de janeiro, fevereiro e março os teores de N-total e N-nítrico foram estatisticamente mais elevados e ao mesmo tempo apresentaram, maiores variações, crescendo em função das doses de adubo nitrogenado. Os autores observaram que tanto os teores de N-total como de N-nítrico e a produção cresceram aproximadamente de forma linear em função das doses de adubo parecendo assim desejável um teor nas folhas de 2,8% a 3% de N-total ou em torno de 500 ppm de N-nítrico, nessa época para uma produção de mais de 500 kg/ha de café beneficiado.

HIROGE et alii (1974) determinaram os teores de N-total e N-nítrico em folhas de café cultivar 'Mundo Novo', pertencentes a um ensaio fatorial 4 x 4 x 4, de doses, fracionamento de aplicação e fontes de fertilizante nitrogenado, instalado em solo Podzólico Vermelho Amarelo Orto de Mococa. A análise das folhas, para o N-total, mostrou que o fracionamento de adubo nitrogenado em duas ou mais aplicações, no período compreendido entre outubro e março, propiciou maior aproveitamento do fertilizante por este tipo de solo. Os resultados encontrados pelos autores demonstraram que os teores, tanto de N-total como de

N-nítrico, e a produção, cresceram de forma linear em função das doses de adubo, havendo correlações significativas entre ambas as formas de nitrogênio e a produção ($r=0,97^{**}$ para N-total e $r=0,89^{**}$ para N-nítrico). Dessa forma indicam os autores que parece desejável um teor nas folhas de 2,9 a 3,1% de N-total e em torno de 500 ppm de N-nítrico, no verão, para uma produção de mais de 1.200 kg/ha de café beneficiado.

GODOY JUNIOR et alii (1961), em cafezal com 2 anos de idade da variedade Mundo Novo, instalado em solo "terra roxa misturada", no espaçamento de 3 metros entre linhas e 2 metros entre as plantas com 4 mudas por cova, estudaram a utilização de diferentes modalidades de adubação, tais como: adubação na cova, apenas adubação orgânica, apenas adubação mineral e adubação orgânica associada com adubação mineral. Os autores verificaram a influência da adubação na primeira colheita de café, no que se refere à produção, rendimento do café colhido e qualidade da bebida. Para tanto consideraram as produções das colheitas parciais em porcentagem de produção total, rendimento de 100 litros de café maduro em kg de café beneficiado relativos a três colheitas, como também o rendimento médio das mesmas, relação côco-beneficiado das três colheitas e finalmente a relação côco-beneficiado da média das mesmas. Foi observado que as menores produções totais de café beneficiado foram obtidas nos tratamentos contendo mistura mineral de estêrco na instalação das covas, combinados com mistura mineral aplicada em cobertura e parceladamente nas plantas em desenvolvimento. Já a qualidade da bebida, como também as demais características estudadas (rendimento e relação côco-beneficiado), não foram influenciadas pelos diferentes tratamentos.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 - Instalação da cultura

Para a realização do presente experimento, escolheu-se uma cultura de café de 2 anos de idade, cultivar 'Mundo Novo' LCP 379/19, plantada em um solo Latossol Vermelho Escuro-fase arenosa Série Santa Tereza segundo classificação de ALOISI e DEMATTÊ (1974), em área da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, "Campus" de Jaboticabal, em espaçamento de 4,0 metros entre linhas e 2,5 metros entre covas, obedecendo-se o número de 2 plantas por cova em linha. Para a formação dessa cultura foi inicialmente coletada amostra de solo para fins de análise de fertilidade. O resultado dessa análise, realizada pela Seção de Fertilidade de Solo do Instituto Agrônomo de São Paulo em Campinas, revelou tratar-se de solo de acidez média, teor de matéria orgânica médio, fósforo baixo, potássio médio, cálcio e magnésio baixo e alumínio ausente, conforme resultados apresentados no Quadro 1.

QUADRO 1 - Resultados analíticos da amostra de solo, coletada na área de instalação do experimento.

pH	Carbono (%)	e.mg por 100 ml T.F.S.A.			
		PO_4^{-3}	K^+	$Ca^{++} + Mg^{++}$	Al^{+3}
5,50	1,35	0,03	0,15	1,10	-

Por ocasião da instalação dessa lavoura, foi efetuada a adubação nas seguintes doses, por cova, segundo recomendação de MORAES (1963): 20 litros de estêrco de curral, 150 gramas de Superfosfato simples e 25 gramas de Cloreto de potássio.

Nos dois primeiros anos do desenvolvimento da cultura não se efetuou nenhuma adubação nesse cafezal.

3.2 - Delineamento experimental

Na instalação do experimento foi adotado o delineamento de blocos casualizados com 7 tratamentos e 6 repetições. Para tanto, o cafezal foi dividido em 6 blocos. Em cada bloco, os tratamentos eram constituídos de 1 linha de café, contendo 12 covas. Para a coleta de dados foram utilizadas as 10 plantas centrais de cada tratamentos, constituindo-se as duas restantes nas extremidades da bordadura.

Os tratamentos empregados, que se constituíram na aplicação por cova de doses crescentes de adubo nitrogenado, são apresentados no Quadro 2.

QUADRO 2 - Doses de adubo nitrogenado aplicadas por cova de café.

Tratamentos	Elemento N (dose, g)	Fonte do Elemento (Sulfato de amônio) (g)	Total de Sulfato de Amônio aplicado (4 doses parceladas) (g)
T	0	0	0
1	10	50	200
2	20	100	400
3	30	150	600
4	40	200	800
5	50	250	1000
6	60	300	1200

3.3 - Adubação nitrogenada

Como adubo nitrogenado foi empregado o Sulfato de Amônio, contendo em média 20% de nitrogênio e 24% de enxôfre. Com base na dose de nitrogênio 20g de N (100g de Sulfato de Amônio) por cova, aplicação repetida 4 vezes, levando-se em consideração recomendação de MORAES (1971) para cafezal em formação no 3º ano, estabeleceu-se as demais doses referentes aos tratamentos empregados.

As aplicações foram iniciadas em 20/10/71 e repetidas nos dias 04/11, 19/11 e 04/12/71, perfazendo no total de 4 aplicações, as doses referentes aos tratamentos apresentados no Quadro 2.

A distribuição das quantidades de adubo refe

rentes aos vários tratamentos foi feita a lanço no solo, ao redor da cova de café acompanhando a projeção da copa.

3.4 - Dados meteorológicos ocorridos durante a fase de campo

A fase de campo do experimento foi conduzida até o mês de maio de 1973, quando se realizou a última colheita de frutos no cafezal. Os dados meteorológicos desse período são apresentados no ANEXO, Quadros 1, 2 e 3.

3.5 - Atividade da nitrato redutase

3.5.1 - Coleta de fôlhas para análise

As amostras para análise foram coletadas em duas oportunidades: a primeira 45 dias após a última adubação, isto é, no dia 19/01/1972 e a segunda 2 meses após a 1.^a amostragem, no dia 20/03/1972.

Para fins de amostragem foi necessária uma seleção cuidadosa das fôlhas, a fim de que estas representassem o estado real de nutrição da planta.

Portanto coletou-se fôlhas no 3º para, situadas nos ramos de altura média do cafeeiro, 1 par para cada exposição da planta de acôrdo com técnica usual, recomendada por LOTT et alii (1956).

A coleta das amostras, nas duas oportunidades, foi iniciada às 9 horas da manhã, colhendo-se 4 pares de fôlhas por planta, perfazendo no total de 80 pares por tratamento, fôlhas estas limpas de partículas grosseiras, as quais foram acondicionadas em saquinhos de polietileno, conservadas à sombra e posteriormente levadas ao laboratôrio para serem preparadas e analisadas.

3.5.2 - Determinação da atividade da nitrato redutase em amostras de tecido foliar do cafeeiro

Para a determinação da atividade da nitrato redutase, necessário se fez inicialmente estabelecer a padronização do método, o que foi feito da seguinte maneira:

Foi preparada uma solução estoque de nitrito, a partir de nitrito de sódio "Merck" pela dissolução de 4,9286g do sal em água destilada, sendo a seguir o volume completado a 1.000 ml de água destilada.

Esta solução continha 1 mg de N-nitrito por ml (Solução Padrão A). Uma solução padrão mais diluída (Solução Padrão B) foi obtida, pela transferência de 1 ml da Solução Padrão A para um balão volumétrico de 100 ml e o volume completado com solução de nitrato de potássio 0,25 M em tampão fosfato 0,1 M pH 7,4.

Esta solução continha 10 μ g de N-nitrito por ml (Solução Padrão B). Padrões contendo 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 mg de N-nitrito por ml, foram preparadas pela diluição de 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 6 ml da Solução B, respectivamente em 100 ml com solução de nitrato de potássio em tampão fosfato 0,1 M. pH 7,4.

Para a determinação colorimétrica, foram tomados 1 ml de cada uma das soluções padrão em béquers de 25 ml e adicionados 3 ml de solução de nitrato de potássio 0,25 M em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4, 1 ml de solução de sulfanilamida a 1% em ácido clorídico 1,5 N e 1 ml de solução aquosa de cloridrato de N (1-naftil)-etilen diamina a 0,2%. Após 5 minutos, a absorbância a 540 nm foi determinada em espectrofotômetro Spectronic-20 usando água destilada como branco.

A atividade da nitrato redutase foi determinada utilizando-se o método proposto por MULDER et alii (1959), modificado por BAR-AKIVA et alii (1967).

As folhas amostradas foram recortadas com auxílio de furador que forneceu discos de tecido foliar de 2,5 mm de diâmetro, tomando-se o cuidado de não atingir a nervura central da folha para maior uniformidade do material amostrado.

Pesou-se 200 mg de cada amostra, transferindo logo após para frascos escuros e incubados por 2 horas a 35°C (B.M.) em ausência de luz e na presença de solução de nitrato de potássio 0,25 M em tampão fosfato 0,1 M pH 7,4; em todo o período de incubação, o material sofreu agitação.

Após este período de incubação, o material foi filtrado e a reação interrompida com 1 ml de sulfanilamida 1% em ácido clorídrico 1,5 N e 1 ml de solução aquosa de cloridrato de N (1-naftil)-etilendiamina 0,2% e após 5 minutos de repouso a suspensão foi filtrada em papel filtro Whatman nº 1 e determinada a absorbância a 540 nm.

Os valores da atividade da nitrato redutase expressos em absorbância, foram transformados em µg de N-nitrito formado/grama de tecido frêsc0/hora.

3.6 - Efeito da adubação nitrogenada na produção e rendimento de café

3.6.1 - Avaliação da produção

A avaliação da produção foi feita colhendo-se o café produzido em lo covas de cada tratamento e repetição nos anos agrícolas de 1971/72 e 1972/73, respectivamente em 24/05/72 (1ª colheita) e 04/05/73 (2ª colheita).

No momento da colheita, os frutos se apresentavam com maturação desuniforme, encontrando-se frutos nos estágios de verde, cereja, passa, côco; procurou-se iniciar a colheita quando a fração encontrada de verde era a menor possível.

A colheita foi feita pelo método de "derrição no chão" recolhendo-se posteriormente o café, após abanção, em sacos de lona, e logo após sendo levado ao terreiro, onde sofreu o processo de secagem natural até atingir teor de umidade constante para todos os tratamentos. A determinação do teor de umidade das amostras foi feita tomando-se, após cada período de seca, uma amostra de 1 litro de café em côco de cada tratamento, pesando-se em balança marca Filizola de capacidade para 2 kg com aproximação de décimo de grama, até se atingir peso constante das amostras referentes aos diversos tratamentos. Finalmente o café foi pesado em balança de plataforma marca Filizola, de capacidade para 200 kg, obtendo-se assim os dados referentes à produção de café, expressa em kg de café em côco por tratamento.

3.6.2 - Avaliação do rendimento

Para a avaliação do rendimento do café colhido, tomou-se uma amostra de café de aproximadamente 1 kg, representativa de cada tratamento colhido.

As amostras, no total de 42, foram identificadas e levadas para se determinar o rendimento em máquina beneficiadora de café; tomou-se uma amostra de 1 litro de café em côco representativa de cada tratamento, a qual foi submetida às operações de beneficiamento em máquina apropriada para tal finalidade, resultando no final do processo, café beneficiado do tipo "bica corrida" e palha de ca

fê já separados em suas respectivas frações.

O café beneficiado do tipo "bica corrida" foi posteriormente pesado em balança de 0,01g de aproximação, obtendo-se desta maneira um determinado valor, expresso em gramas, que corresponde ao rendimento do café colhido em cada tratamento.

3.7 - Esquema da análise de variância

A análise de variância dos dados obtidos no presente experimento foi realizada conforme GOMES (1963), obedecendo o esquema apresentado no Quadro 3.

QUADRO 3 - Esquema da análise de variância.

Causas de Variação	Graus de Liberdade
Blocos	5
Tratamentos	6
Resíduo	30
Total	41

Para comparação das médias resultantes dos dados obtidos, adotou-se o Teste de Tukey, igualmente citado por GOMES (1963).

4. RESULTADOS

4.1 - Determinação da atividade da nitrato redutase

4.1.1 - Padronização do método

Os resultados obtidos para a curva padrão da dosagem do íon nitrito em presença do íon nitrato, estão apresentados no Quadro 4 e representam a média de 5 determinações para cada concentração de nitrito.

QUADRO 4 - Valores médios de absorvância, obtidos da determinação volumétrica do íon nitrito na presença do íon nitrato.

Concentração de Nitrito em μg de N-nitrito/6 ml	Absorbância nm
0,0	0,013
0,1	0,080
0,2	0,175
0,3	0,240
0,4	0,333
0,5	0,411
0,6	0,492

Fazendo-se a análise de regressão, observou -
-se que a mesma não apresentou desvio e encontrou-se a se
guinte equação da reta:

$$y = 0,8069X + 0,0071 \text{ onde}$$

x = concentração de N-nitrito em $\mu\text{g/g}$ de tecido fres
co/hora.

y = absorbância.

Os resultados obtidos da atividade da nitrato
redutase, expressos em absorbância, foram transformados em
 μg de N-nitrito/g de tecido fresco/hora, através da subs
tituição de seus valores na equação de regressão.

4.1.2 - Determinação da atividade da nitrato re dutase em amostras de tecido foliar de café

No Quadro 5, são apresentadas as médias das
duas amostragens efetuadas, respectivamente em 19/01/72 e
20/03/72, referentes aos valores da atividade da nitrato
redutase. Nesse mesmo quadro, aparecem os valores das di
ferenças mínimas significativas, calculadas pelo método de
Tukey para comparação entre as médias.

Completam o quadro os valores de F e os coe
ficientes de variação resultantes das análises de variân
cia dos valores da atividade da nitrato redutase encontra
das.

Pela observação dos resultados obtidos no Qua
dro 5, verifica-se que os valores de F para tratamentos re
lativos às amostragens realizadas, 1.^a e 2.^a, foram signifi
cativos ao nível de 5% de probabilidade, demonstrando, por
tanto, que houve diferença significativa entre os tratamen
tos utilizados.

QUADRO 5 - Médias da atividade da nitrato redutase expressa em μg de N-nitrito/g de tecido fresco/hora.

Tratamentos	Sulfato de amônio (g)	Atividade da Nitrato Redutase	
		1. ^a amostragem (19/01/72)	2. ^a amostragem (20/03/72)
T	0	0,0567 b (1)	0,2101 d(1)
1	200	0,0620 ab	0,2478 cd
2	400	0,0680 ab	0,2918 bcd
3	600	0,0700 ab	0,3726 ab
4	800	0,0833 a	0,4197 a
5	1000	0,0715 ab	0,3660 ab
6	1200	0,0666 ab	0,3001 bc
d.m.s. a 5% (Tukey)		0,0236	0,0892
valor de F (tratamentos)		2,39*	13,29*
C.V. (%)		19,22	15,82

* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

(1) as médias em cada coluna, seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

Comparando as médias relativas à 1.^a amostragem, observa-se que o tratamento 4 (800 g de sulfato de amônio) apresentou o maior valor em relação à atividade da redutase e que apenas esse tratamento apresentou diferença significativa em relação à testemunha (0 de sulfato de amônio), não diferindo porém dos demais tratamentos.

Em relação às médias relativas à 2.^a amostragem, verifica-se também que o tratamento 4 (800 g de sulfato

to de amônio) apresentou o maior valor em relação à atividade da redutase. Entretanto, pode-se observar que o tratamento 4 não diferiu dos tratamentos 3 e 5; estes não diferiram dos tratamentos 2 e 6 e o tratamento 2 por sua vez não diferiu da testemunha e nem do tratamento 1.

Para melhor visualização dos resultados obtidos, referentes à atividade da redutase, apresentamos a Figura 1 contendo as curvas representativas dos valores da 1.^a e 2.^a amostragem, respectivamente.

4.2 - Produção de café

No Quadro 6, são apresentadas as médias obtidas nas duas colheitas efetuadas, 1.^a produção (24/05/72) e 2.^a produção (04/05/73), expressas em kg de café em côco por tratamento. Nesse mesmo quadro aparecem os valores das diferenças mínimas significativas, calculadas pelo método de Tukey, para comparação entre médias.

Completam o quadro os valores de F e os coeficientes de variação resultantes das análises de variância dos valores relativos às produções obtidas na 1.^a e 2.^a colheita.

Pela observação do Quadro 6 e Figura 2, verifica-se que os valores de F para tratamentos, tanto para a 1.^a como para a 2.^a produção, acusaram significância ao nível de 1% de probabilidade, demonstrando que houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados.

Comparando-se as médias, verifica-se que, dentre os resultados obtidos na primeira produção, o melhor foi obtido com o tratamento 4 (800 g de sulfato de amônio).

Já para as médias da 2.^a produção, maiores valores médios de produção foram obtidos com os tratamentos

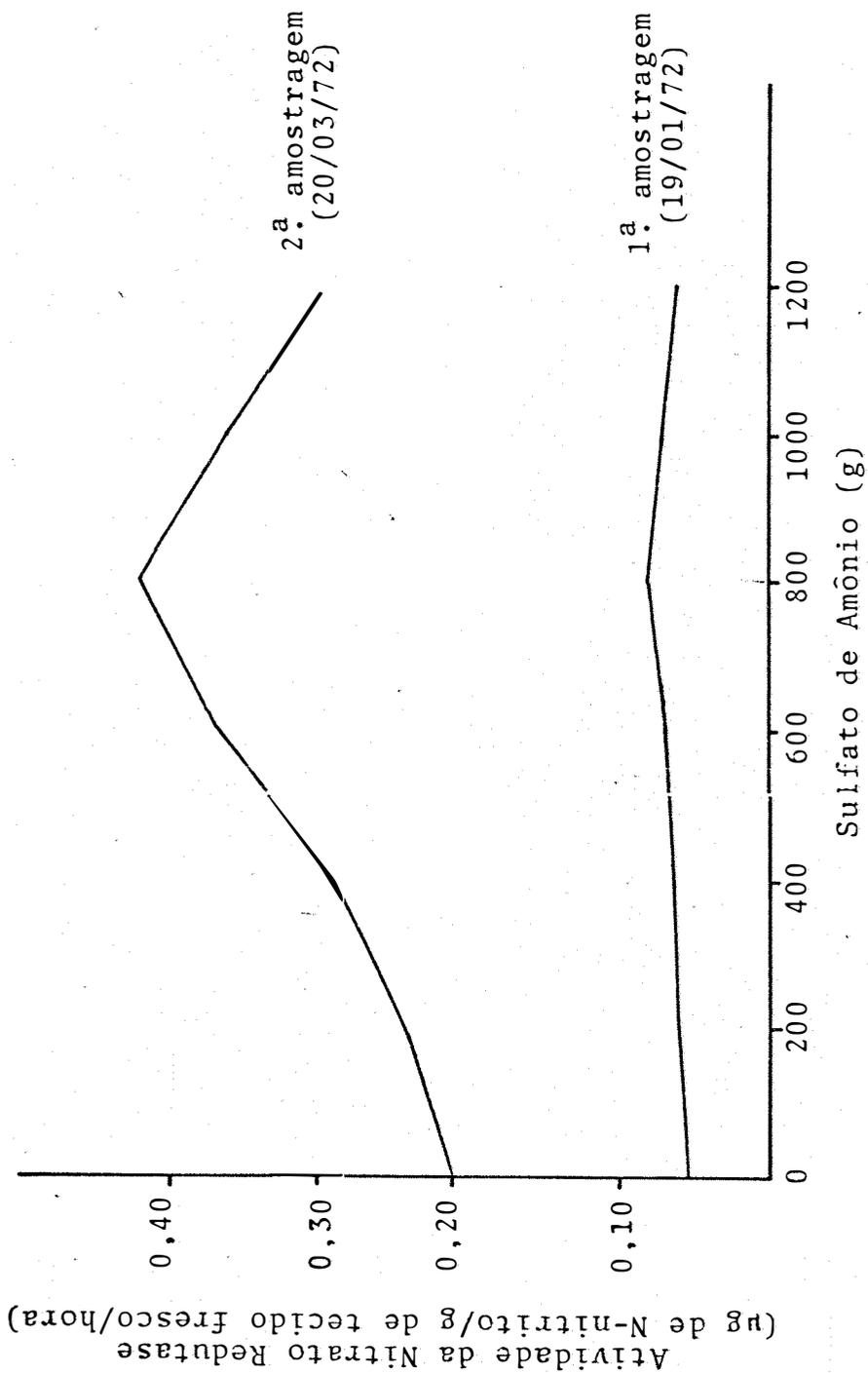


Figura 1 - Médias da atividade da nitrato redutase referentes à 1ª e 2ª amostragem.

QUADRO 6 - Médias da produção de café em côco em kg por tratamento, nas duas colheitas.

Tratamentos	Sulfato de amônio (g)	1. ^a produção (25/05/72) (g)	2. ^a produção (04/05/73) (g)
T	0	0,70 d(1)	7,20 b(1)
1	200	0,70 d	7,71 b
2	400	0,97 c	8,70 ab
3	600	1,27 b	8,96 ab
4	800	2,14 a	9,20 ab
5	1000	1,39 b	10,36 a
6	1200	1,00 c	10,65 a
d.m.s. 5% (Tukey)		0,23	2,57
Valor de F (tratamentos)		94,81*	4,87*
C.V. (%)		10,88	15,72

* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

(1) as médias em cada coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

5 e 6 (1000 e 1200 g de sulfato de amônio, respectivamente), embora estatisticamente não se diferenciasssem dos tratamentos 2, 3 e 4.

4.3 - Rendimento do café em côco

No Quadro 7, são apresentadas as médias relativas aos valôres do rendimento de café colhido respectiva

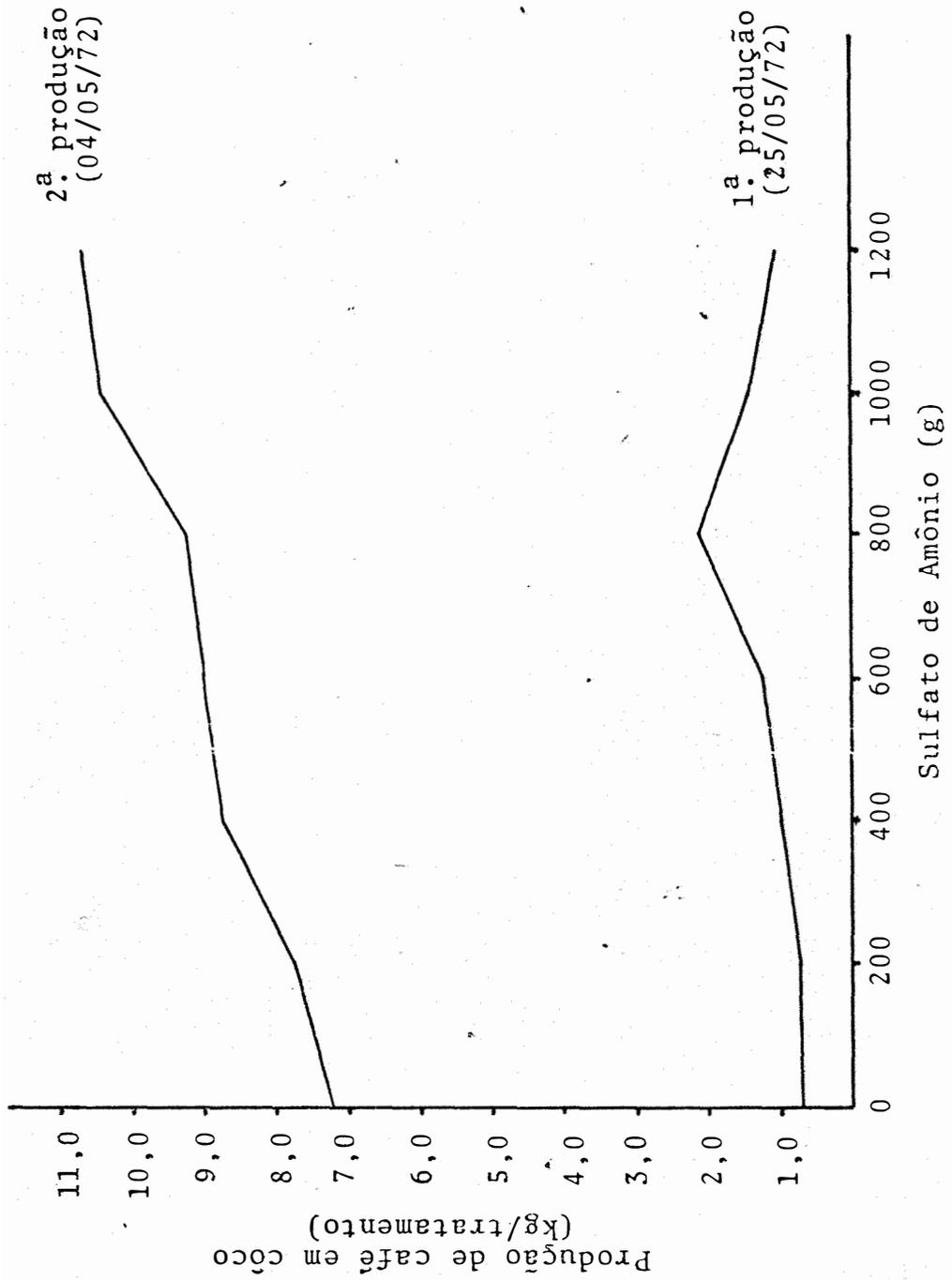


Figura 2 - Médias da produção de café em côco referentes a 1.ª e 2.ª colheita.

mente da 1.^a produção (24/05/72) e 2.^a produção (04/05/73) . No mesmo quadro, são apresentados os valores de F e os coeficientes de variação resultantes das análises de variância dos resultados obtidos.

QUADRO 7 - Médias do rendimento de café em côco (gramas/litro).

Tratamentos	Sulfato de amônio (g)	1. ^a produção (24/05/72) (g/l)	2. ^a produção (04/05/73) (g/l)
T	0	20,84	18,67
1	200	20,85	17,09
2	400	21,02	18,16
3	600	20,87	18,33
4	800	21,06	17,77
5	1000	21,14	18,50
6	1200	20,89	18,13
Valor de F (tratamentos)		0,17	0,55
C.V. (%)		3,27	5,05

Pela observação dos valores de F para tratamentos, no Quadro 9, verifica-se que os rendimentos de café colhido tanto para a 1.^a como para a 2.^a produção não foram significativos, demonstrando que não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizados.

5. DISCUSSÃO

5.1 - Atividade da nitrato redutase

A determinação da atividade da nitrato redutase pode ser feita "in vitro", utilizando-se extrato do tecido foliar ou "invivo", em fragmentos de fôlhas.

O processo de determinação da atividade da nitrato redutase "in vivo" é bem mais simples e de fácil execução, possibilitando a análise simultânea de várias amostras e não exigindo também equipamentos sofisticados. Além disso, segundo STREETER e BOSLER (1972), o método de determinação da atividade da nitrato redutase "in vivo" é mais eficiente que o processo que usa extrato; portanto no presente trabalho, utilizou-se fragmentos de folhas para a determinação da atividade da enzima.

Para a determinação da atividade da nitrato redutase, foi utilizado o método de BAR-AKIVA (1967), que é o mesmo método proposto por MULDER et alii (1959), apenas com a diferença de que o método usado por BAR-AKIVA (1967), não utiliza a infiltração a vácuo para acelerar a difusão do N-nitrito para a solução.

No presente trabalho, os resultados obtidos através da determinação da atividade da nitrato redutase na 1.^a amostragem (19/01/72), apresentados no Quadro 5 e representados graficamente na Figura 1, demonstram que nessa amostragem não houve incremento nos valores da atividade da enzima em relação as dosagens de N-aplicados, embora maior valor médio tenha sido obtido no tratamento 4 (800 g de Sulfato de Amônio). Ao que tudo indica, a razão de não haver incremento nos valores da atividade da nitrato redutase em relação às doses de nitrogênio empregados, deve-se provavelmente ao fato da 1.^a amostragem ter sido feita aos 45 dias após a 1.^a aplicação de adubo nitrogenado.

É de se supor que, nesse período, apenas parte do nitrogênio aplicado ao solo tenha sido mineralizado e absorvido pelas plantas. Isto fica evidenciado quando observamos os valores da nitrato redutase em relação às dosagens de N empregadas, relativas à 2.^a amostragem (20/03 / 72). Houve um incremento nos valores da enzima até o tratamento 4 (800 g de Sulfato de Amônio), como na 1.^a amostragem, a partir do qual verificou-se uma diminuição dos valores demonstrando um efeito depressivo da atividade da enzima com as doses dos tratamentos 5 e 6 (1000 e 1200 g de Sulfato de Amônio respectivamente), o que pode ser visualizado pela observação dos resultados apresentados no Quadro 5 e representados graficamente na Figura 1.

Os valores da atividade da nitrato redutase, resultantes da 2.^a amostragem, foram maiores do que aqueles referentes à 1.^a amostragem, observando-se que a 2.^a amostragem foi feita 60 dias após a 1.^a, isto é, exatamente 105 dias após o início das aplicações parceladas de adubos nitrogenados.

Na 2.^a amostragem, houve maior espaço de tempo entre a última aplicação do adubo e a coleta de amostras, o

que deve ter permitido uma maior mineralização do adubo no solo, resultando em maiores quantidades de nitrato absorvidos pela planta e promovendo maiores valores da atividade da nitrato redutase. Entretanto, não é possível explicar qual o comportamento do adubo nitrogenado aplicado no solo e, posteriormente, qual a quantidade de nitrato absorvido pela planta e que resultou na atividade da nitrato redutase, tanto na 1.^a como na 2.^a amostragem, pois não foram feitas determinações nesse sentido.

As condições climáticas, tais como precipitação pluviométrica, período de insolação e temperatura, podem afetar a absorção de nitrato pela planta como também a atividade da nitrato redutase na mesma.

Pela observação dos valores relativos às condições meteorológicas a que ficou sujeito o experimento, nos meses de outubro de 1971 a março de 1972, verifica-se que as mesmas foram normais para o período e boas para a cultura do café.

Isto porque nesse período, pela observação dos dados contidos no ANEXO (Quadro 1), verifica-se que a temperatura média manteve-se ao redor de 23°C, a precipitação total atingiu 1.279 mm, a insolação média, 173,7 horas e a umidade relativa do ar 74%.

Entretanto, por ocasião da 1.^a amostragem (19/01/72) observa-se, pelos dados contidos no ANEXO (Quadro 3) que nesse dia houve uma elevação da temperatura, queda da umidade relativa do ar e insolação normal para o período. Por outro lado, na 2.^a amostragem, verifica-se temperatura mais baixa que do que na 1.^a amostragem, alta umidade relativa e índice de insolação mais elevado. Em ambas as amostragens houve um período de ausência de precipitação de 7 dias antes e durante as amostragens, portanto é possível que a atividade da nitrato redutase tenha sido influen

ciada pelas condições a que ficou sujeito o experimento. Entretanto, em ambas as amostragens, a coleta das folhas foi feita iniciando-se às 9 horas da manhã e terminando-se no menor espaço de tempo possível, a fim de evitar influência de fatores climáticos.

Porém, quando consideramos as propriedades químicas do solo onde foi instalado o experimento, verifica-se, pela observação dos valores contidos no Quadro 1, que o mesmo apresentava acidez média, teor de matéria orgânica médio, fósforo baixo, potássio médio, cálcio e magnésio baixo e alumínio ausente.

Segundo PAULSEN e HARPER (1968), o cálcio e o magnésio parecem estar relacionados com a atividade da nitrato redutase, o que RITENOUR et alii (1967) confirmam, em relação ao magnésio.

Já HARPER e PAULSEN (1968), estudando plantas de trigo, verificaram que são necessários níveis relativamente altos de nitrato e fósforo no solo para estimular níveis máximos da atividade da nitrato redutase, enquanto que somente baixos níveis dos demais elementos são necessários para manter esse mesmo máximo. Os mesmos autores mostraram que o conteúdo de nitrato nas folhas era baixo, nas deficiências de todos os nutrientes estudados, com exceção do enxofre, denotando baixa atividade da redutase do nitrato.

Como por ocasião do plantio foram aplicados na cova 150 gramas de superfosfato simples (20% de P_2O_5 e 29% de enxofre (SO_3)) e 50 gramas de KCl (60 a 62% de K_2O) é de se supor que essas doses seriam suficientes para suprir as necessidades na primeira fase de desenvolvimento das plantas.

Por outro lado, MALAVOLTA et alii (1974), quando o solo não é rico em matéria orgânica mineralizável ou

quando não se emprega uma dose adequada de nitrogênio ou então quando advém um período de sêca relativa, ocorre um "deficit" no fornecimento de nitrato para a planta, a qual manifesta o sintoma dependendo do nível de elemento exigido.

Entretanto, no presente experimento, além da utilização de quantidade suficiente de matéria orgânica mineralizável para as plantas (20 litros de estêrco de curral nas covas por ocasião do plantio) utilizaram-se doses de nitrogênio suficientes tanto para o desenvolvimento vegetativo como para a frutificação, como sugere SAMUELS (1957). Também foram empregadas doses excessivas, como é o caso dos tratamentos 4, 5 e 6 (800, 1000 e 1200g de sulfato de amônio), o que poderia resultar em efeitos depressivos para a planta e a produção subsequente.

Foi observado um efeito depressivo de doses elevadas de nitrogênio, relativo ao tratamento 5 e 6 (1000 e 1200 g/planta de sulfato de amônio) que ocasionou um decréscimo no valor da atividade da nitrato redutase. Torna difícil afirmar qual seria a justificativa da ocorrência dessa diminuição da atividade da enzima.

Autores como INGLE et alii (1966), estudando a atividade da nitrato redutase em plantas superiores, observaram que a atividade da enzima cresce com o suprimento de nitrato até um certo valor, acima do qual começa a decrescer, devido talvez ao efeito inibidor do acúmulo de nitrito.

Já HARPER e HAGEMAN (1972) estudaram o comportamento da atividade da nitrato redutase em soja, em várias fases do ciclo da planta, e observaram que a atividade da enzima foi máxima no período que vai do florescimento ao início da frutificação para depois decrescer. Como a enzima é substrato induzível (HEWITT e AFRIDI, 1959 e

BEEVERS et alii, 1965) o nível da mesma é devido à concentração do nitrato e é de se supor então, segundo HARPER e HAGEMAN (1972), que o decrêscimo da atividade da nitrato redutase em soja, durante a fase de desenvolvimento estudada, se deve a um decrêscimo do teor de nitrato em todas as partes da planta.

Porém não existe analogia entre o decrêscimo da atividade da nitrato redutase, observada em soja por HARPER e HAGEMAN (1972) durante o período do início do florescimento ao início da frutificação, e o decrêscimo da atividade da enzima no presente experimento por ocasião da 2.^a amostragem. Isto porque apesar da 2.^a amostragem ter sido feita no período final de frutificação (maturação dos frutos), período este de máxima extração segundo MORAES e CATANI (1964) principalmente de nitrogênio (49% do total de nitrogênio absorvido está contido nos frutos), era de se esperar uma manutenção da atividade da enzima, tendo em vista que os tratamentos que apresentaram uma diminuição nos valores das atividades da nitrato redutase foram aqueles que continham as doses consideradas excessivas, tratamentos 5 e 6 (1000 e 1200 g/cova), os quais são mais do que suficientes para suprir as exigências da planta, relativos à vegetação e frutificação. Dessa maneira, o suprimento de nitrato necessário e suficiente para a atividade da enzima deve ter sido fornecido.

Por outro lado, determinando-se os valores de N-total, N-nítrico e a atividade da redutase do nitrato nas amostras de folhas coletadas por ocasião da 1.^a e 2.^a amostragem, e estabelecendo-se correlações entre os valores obtidos, poder-se-ia explicar o comportamento da atividade da enzima, em relação às doses de nitrogênio aplicadas.

No presente trabalho, ficou evidenciado que a

atividade da nitrato redutase aumenta, à medida que são aumentadas as doses de nitrogênio até um determinado valor, decrescendo posteriormente, e que existe uma relação entre as doses de nitrogênio empregadas, atividade da enzima e produção de café. Levando em consideração o tratamento 4 (800 g de sulfato de amônio), observamos que, além de resultar no maior valor em relação à atividade da nitrato redutase nas amostragens realizadas (19/01/72 e 20/03/72), foi o tratamento que apresentou os maiores valores na produção de café em côco, em kg/tratamento na 1ª colheita (24/05/72), evidenciando que a atividade da enzima comprovou a maior exigência e portanto necessidade de adubo nitrogenado. Resultados semelhantes foram observados por BAR-AKIVA et alii (1967) que encontraram uma correlação positiva significativa entre a atividade da nitrato redutase e a produção em citros (Grapefruit), comprovando a eficiência da utilização da atividade da enzima para se avaliar o estado nutricional da planta em relação a adubação nitrogenada.

Porém BAR-AKIVA et alii (1970), em *Lolium multiflorum* encontraram que a adição de quantidades cada vez maiores de nitrogênio no solo acumulava nitrato nas fôlhas, aumentando a atividade da redutase do nitrato sem entretanto aumentar a produção.

Para se utilizar a atividade da nitrato redutase como um método para se determinar as necessidades em nitrogênio em cafeeiros é necessário que, além das determinações feitas no presente trabalho, as quais comprovam a possibilidade de utilização do método, se introduzam modificações e novas determinações.

Trabalhos desenvolvidos por LIBRANDI (1975) em feijoeiro, e KANESIRO (1976) em tomate, estudando a atividade da nitrato redutase nessas culturas, determinaram as

condições, ideais para utilização do método. Os autores, para as culturas citadas, estudaram a influência da época de amostragem, hora de amostragem, posição da folha na planta, peso da amostra e padronização do tempo de incubação para a calibração do método utilizado.

Levando em conta que o presente trabalho foi desenvolvido nos anos agrícolas de 1971/72 e 1972/73 e que, até aquele momento, não havia nada de concreto sobre a determinação da atividade da nitrato redutase em café, considerava-se uma contribuição ao estudo da enzima, os resultados obtidos.

Novos trabalhos deverão ser realizados com a finalidade de calibrar o método para a sua utilização em café, destacando alguns detalhes que devem ser estudados, tais como: época de amostragem, hora da amostragem, número de folhas e posição da folha por planta, peso da amostra, N total e N-nítrico em amostras de tecido foliar.

5.2 - Efeitos da adubação nitrogenada na produção e rendimento do café colhido

No presente trabalho, estudou-se também o efeito da adubação nitrogenada na produção e rendimento do café colhido.

Quando se estudou o efeito da adubação nitrogenada na produção de café em côco, expresso em kg/tratamento, verificou-se que houve influência das doses de nitrogênio empregadas, por ocasião da 1.^a colheita (24/05/72), como também na produção do ano seguinte, 2.^a colheita (04/05/73), cujos valores são apresentados no Quadro 6 e representados graficamente na Figura 2.

Em relação aos resultados obtidos referentes à produção de café em côco (kg/parcela), resultantes da 1.^a

colheita, observou-se que estas sofreram incrementos, como consequência do aumento das doses de nitrogênio aplicadas até o tratamento 4 (800 g de sulfato de amônio), que apresentou os maiores valores e a partir da qual apresentaram-se valores decrescentes.

Observou-se que o comportamento dos valores da produção de café em côco foi semelhante aquele da atividade da nitrato redutase, na 1.^a fase deste trabalho, mostrando que o tratamento que acusou o maior valor da atividade da enzima, e que doses maiores do que aquela, apresentara, efeito depressivo tanto na produção como na atividade da enzima.

Apesar do cafeeiro ser considerado uma planta exigente, principalmente na fase de crescimento e produção (CATANI e MORAES, 1958 e CATANI et alii, 1967), supõe-se que as doses de nitrogênio empregadas na adubação até o tratamento 4 (800 g de sulfato de amônio) foram suficientes para atender as exigências nutricionais da planta e que doses acima desses valores foram excessivas, pois foram aplicadas 1.000 e 1.200 g por planta (tratamento 5 e 6) para um cafeeiro no 3.^o ano de idade quando a dose recomendada por MORAES (1971) é 400 g de sulfato de amônio distribuída em 4 vezes.

A influência das doses de nitrogênio na produção de café pode ser explicada tendo em vista que, por ocasião da instalação do experimento, isto é, da 1.^a aplicação de adubo nitrogenado, a qual foi feita no dia 20/10/71 e posteriormente repetida nos dias 4/11 e 19/11 e encerradas no dia 04/12/71, havia frutos parcialmente formados, no estágio de "chumbinho". Portanto, houve tempo suficiente para que os frutos pudessem aproveitar o nitrogênio aplicado. Um fato que pode ilustrar esta afirmativa são os resultados apresentados por MORAES e CATANI (1964), que en

contraram em frutos de café, no período relativo ao 4º e 5º mês após o florescimento, apenas 30% do nitrogênio acumulado, em relação aos totais encontrados no final da maturação. Portanto, fica evidenciado que, na 1ª colheita, as doses de nitrogênio empregadas favoreceram o desenvolvimento dos frutos do café, pois quando o adubo nitrogenado foi utilizado, estes estavam no início de desenvolvimento. Já em relação à 2ª colheita (04/05/73), foi observado um comportamento diferente da produção de café em côco, visto que houve um aumento gradativo da mesma, à medida que foram aumentadas as doses de nitrogênio, apesar de estatisticamente não terem sido observadas diferenças entre as doses.

Porém, como não foi aplicado adubo nitrogenado no experimento, em fins de 1972 e início de 1973, período de frutificação do cafeeiro, com a finalidade de verificar a influência da adubação nitrogenada do ano anterior, supõe-se que o aumento da produção, em função das doses de nitrogênio empregadas, tenha sido ocasionado pela adubação residual do ano anterior. Ainda com relação à 2ª colheita, verificou-se que houve um destaque na produção de café em côco, nos tratamentos nos quais se empregou 1.000 e 1.200 g de Sulfato de amônio por cova, em relação à testemunha.

Finalmente quando se estudou a influência da adubação nitrogenada no rendimento do café colhido por ocasião da 1ª colheita (24/05/72) e da 2ª colheita (04/05/73) não se observou efeito significativo dos tratamentos empregados.

Resultados semelhantes encontraram GODOY JUNIOR et alii (1961), estudando a influência de modalidades de adubação em café, por ocasião do plantio na cova e no ano seguinte, em cobertura, os quais não observaram influência dos tratamentos utilizados no experimento, no rendimento do café colhido.

6. CONCLUSÃO

A análise e a interpretação dos dados obtidos do experimento realizado nas condições descritas no presente trabalho, permitiram as seguintes conclusões:

a) O método da determinação da atividade da nitrato redutase "in vivo" pode ser utilizado no café, para avaliação do estado nutricional da planta em nitrogênio.

b) As duas amostragens realizadas revelaram que a atividade da nitrato redutase cresceu com o aumento das doses de fertilizante nitrogenado, até o limite de 800 g de Sulfato de amônio por cova, a partir do qual, de cresceu.

c) Na 1.^a avaliação da produção de café em côco, maior produção foi obtida com a dose de 800 g de Sulfato de amônio por cova, coincidindo com o máximo valor alcançado para a atividade da nitrato redutase, tanto na 1.^a como na 2.^a amostragem realizada.

d) Na 2.^a avaliação da produção, quando se procurou analisar o efeito residual do fertilizante nitrogenado, as produções cresceram com o aumento das doses empregadas em valor absoluto, destacando-se em relação à teste

munha, as doses residuais da aplicação de 1.000 g e 1.200g de Sulfato de amônio por cova.

e) A fertilização nitrogenada não influenciou no rendimento do café em côco.

7. RESUMO

Efeitos de doses crescentes de fertilizante nitrogenado na atividade da nitrato redutase, na produção e rendimento do café (*Coffea arabica* L.) cv. 'Mundo Novo'

O presente trabalho foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias "Campus" de Jaboticabal, Estado de São Paulo, com a finalidade de estudar os efeitos da adubação nitrogenada na atividade da nitrato redutase, na produção e rendimento do café.

Em cafezal de 2 anos de idade, cultivar 'Mundo Novo' LCP 379/19, instalado em solo do tipo Latossol Vermelho Escuro-fase arenosa, Série Santa Tereza, foram aplicadas doses crescentes de fertilizante nitrogenado: 0, 200, 400, 600, 800, 1.000, 1.200 g de Sulfato de amônio, obedecendo a delineamento estatístico de blocos ao acaso, com 6 repetições.

A atividade da nitrato redutase foi determina

da em amostras coletadas no dia 19/01/72 (1.^a amostragem) e 20/03/72 (2.^a amostragem). Os resultados da produção de café em côco e o rendimento foram obtidos através da colheita e determinação do rendimento do café colhido em 25/05/72 (1.^a colheita) e 04/05/73 (2.^a colheita).

A análise e a interpretação dos dados obtidos nas condições descritas no presente trabalho permitiram as seguintes conclusões:

a) O método de determinação da atividade da nitrato redutase "in vivo" pode ser utilizado no café, para avaliação do estado nutricional da planta em nitrogênio.

b) As duas amostragens realizadas revelaram que a atividade da nitrato redutase cresceu com o aumento das doses de fertilizante nitrogenado até o limite de 800g de Sulfato de amônio por cova, a partir da qual, decresceu.

c) Na 1.^a avaliação da produção de café em côco, maior produção foi obtida com a dose de 800g de Sulfato de amônio por cova coincidindo com o máximo valor alcançado para a atividade da nitrato redutase, tanto na 1.^a como na 2.^a amostragem realizada.

d) Na 2.^a avaliação da produção, quando se procurou analisar o efeito residual do fertilizante nitrogenado, as produções cresceram com o aumento das doses empregadas em valor absoluto, destacando-se em relação a testemunha, as doses residuais da aplicação de 1.000g e 1.200g de Sulfato de amônio por cova.

e) A fertilização nitrogenada não influenciou no rendimento do café em côco.

8. SUMMARY

Effects of increasing doses of ni
trogenous fertilizer on the acti
vity of nitrate reductase, on the
yeld and on the relation between
unprocessed and processed grains
of coffee (*Coffea arabica* L.) cv.
'Mundo Novo'

Two year old coffee plants, cultivar 'Mundo Novo' L.C.P. 379/19, growing on dark red latosol, sandy phase, Santa Tereza series, received increasing doses of nitrogenous fertilizer (0, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200g of ammonium sulphate) in accordance with a random block design, with 6 replications.

The nitrate reductase activity was determined on two occasions: 01/09/72 (first sample) and 20/03/72 (second sample). Coffee beans yeld and relation between unprocessed and processed grains, were determined on two occasions: 05/25/72 and 05/04/72.

The following conclusions were drawn from the analysis and interpretation of the data:

1. The activity of the nitrate reductase can be used as an indice of the coffee plant nutritional "status" in terms of nitrogen.

2. The two samples showed that the nitrate reductase activity increased with the dosis of N up to the limit of 800g of Ammonium sulphate per hole; from this point on it decreased.

3. The highest yeld of coffee beans for first harvest acchieved with 800g Ammonium sulphate per hole.

4. In the second harvest, which served the purpose of evaluating the residual effect of the nitrogen fertilization, it was verified that the highest residual effects were obtained from the doses of 1000 and 1200 Ammonium sulphate.

5. The nitrogen fertilization did not affect the relation between unprocessed and processed grains of coffee beans.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOISI, R.R. e J.L.I. DEMATTÊ. 1974. Levantamento dos solos da Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia de Jaboticabal-UNESP. Científica. Jaboticabal, 2(2):123-136.

BAR-AKIVA, A. e J. STERNBAUM. 1965a. Nitrate reduction in citrus trees. Plant & Soil. Netherlands. (in Press).

BAR-AKIVA, A. e J. STERNBAUM. 1965b. Possible use of the nitrate reductase activity of leaves as a measure on the nitrogen requirement of citrus trees. Plant and cell Physiol. London, 6:575-577.

BAR-AKIVA, A.; A. SHAKED e J. SAGIV: 1967. The use of nitrate reductase activity for the appraisal of nitrogen status and productivity of grape-fruit orchard trees. Hort. Sci. London, 2.

- BAR-AKIVA, A.; J. SAGIV e J. LESHEM. 1970. Nitrate reductase activity as an indicator for assessing the nitrogen requirements of grass crops. J. Sci. Fd. Agric. London, 21:405.
- BANDURSKY, R.S. 1965. Biological reduction of Sulfate and Nitrate. In: BONNER, J. e VARNNER, J.E. Plant Biochemistry 3^a Ed. Academic. Press. N.Y., p.467-490.
- BEEVERS, H.; L.E. SCHRADER; D. FLESHER e R.H. HAGEMAN , 1975. The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings. Plant Physiol. Maryland, 40:691.
- BONNER, J. e A.W. GALSTON. 1967. Principios de Fisiologia Vegetal. In: Frederico Portillo. Aquillar . Cap. XI.
- CATANI, R.A. e F.R.P. MORAES. 1958. A composição química do cafeeiro. Quantidade e distribuição de N, P₂O₅, K₂O, CaO, MgO em cafeeiro de 1 a 5 anos de idade. Rev. da Agric. Piracicaba, 33(1):45-52.
- CATANI, R.A. e D. PELLEGRINO; J.C. ALCARDE e C.A.F. GRANER. 1967. Variação na concentração e na quantidade de macro e micronutrientes no fruto do cafeeiro , durante o seu desenvolvimento. Rev. da Agric. Piracicaba, 24:249-263.
- EVANS, H.J. e A. NASON. Pyridine nucleotid - nitrate reductase from extracts of higher plants. Plant Physiol. Maryland, 28:233-254.

- FALEIROS; R.R.S. 1973. Efeito do fósforo, potássio e molibdênio no metabolismo do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*, L. var. Goiano precoce) atividade da nitrato redutase e conteúdo de proteínas solúveis em diferentes fases do desenvolvimento vegetal. Jaboticabal, F.M.V.A.J., 93p. (Tese de Doutorado).
- GALLO, J.R. e R. HIROCE. 1965. Nitrato nas folhas de cafeeiro. Ci. e Cult. São Paulo, 17:191-193.
- GALLO, J.R.; R. HIROCE; F.A.S. COELHO e S.V. TOLEDO . 1975. Levantamento do estado nutricional de cafezais de São Paulo, pela análise foliar. I. Solo masapé - Salmourão. Bragantia, Campinas, 26:103-108.
- GALLO, J.R.; R. HIROCE; O.C. BATAGLIA e F.R.P. MORAES. 1970. Levantamento de cafezais de São Paulo, pela análise química foliar. II. Solos podzolizados de Lins e Marília, latossolo roxo e podzólico vermelho-amarelo-orto. Bragantia, Campinas, 29:237-247.
- GALLO, J.R.; R. HIROCE; O.C. BATAGLIA e F.R.P. MORAES. 1971. Teores de nitrogenio em folhas de cafeeiro, em relação à adubação química. I-Latossolo roxo transição para Latossolo vermelho amarelo orto. Bragantia, Campinas, 30(17):169-177.
- GODOY JUNIOR, C.; E.A. GRANER e E.W. ORSI. 1961. Adubação de Café. III Produção, rendimento e qualidade da bebida na primeira colheita. Rev. da Agric. Piracicaba, 37:141-149.
- GOMES, F.P. 1963. Curso de estatística experimental . 2ª ed. Piracicaba, "E.S.A.L.Q."- USP, 384p.

- HAAG, H.P. e E. MALAVOLTA. 1960. Estudos sôbre a alimentação mineral do cafeeiro. III. Efeito das deficiências dos macronutrientes no crescimento e na composição química do cafeeiro (*Coffea arabica*, L. var. Bourbon (B. Rodr.) Choussy) cultivado em solução nutritativa. Rev. da Agric. Piracicaba, 35:273.
- HARPER, J.E. e G.M. PAULSEN. 1968. Influence of intensity, quality and duration of light on nitrogen reduction and assimilation in wheat Crop. Sci. Winsconcim, 8:537.
- HARPER, J.E. e G.M. PAULSEN. 1969. Nitrogen assimilation and protein synthesis in wheat seedlings as affected by mineral nutrition. I. Macronutrients . Plant Physiol. Maryland, 44:69-73.
- HARPER, J.E. e G.M. PAULSEN. 1969a. Nitrogen assimilation and protein synthesis in wheat seedlings as affected by mineral nutrition. II. Micronutrients . Plant. Physiol. Maryland, 44:639.
- HARPER, J.E. e R.H. HAGEMAN. 1972. Canopy and seasonal profiles of nitrate reductase in soybeans (*Glycine max* L. Merril). Plant Physiol. Maryland, 49:146.
- HEWITT, ES. e M.M.R.K. AFRIDI. 1959. Adaptive synthesis of nitrate reductase in higher plants. Nature , London, 183:57.
- HIROCE, R. 1974. Análise química foliar. Atualidades Agronômicas. São Paulo, 32-39.

- HIROCE, R.; O.C. BATAGLIA; J.R. GALLO e F.R.P. MORAES. 1974. Teores de nitrogênio em folhas de cafeeiro , em relação à adubação química. II - Solo Podzólico vermelho amarelo-orto. Ci. e Cult. São Paulo, 26 (1):64-69.
- INGLE, J.; K.W. JOY e R.H. HAGEMAN. 1966. The regulation of activity of the enzymes involved in the assimilation of nitrate by higher plants. Bioch. J. 100 :577-588.
- KANESIRO, M.A.B. 1976. Efeito da adubação nitrogenada e fosfatada sobre a atividade da nitrato redutase, teores de N-nitrato e carboidratos durante o desenvolvimento de *Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar "Roma" V.F. (Tomateiro). Catanduva, F.F.C.L., 100p (Tese de Doutorado).
- KLEPPER, L.; D. FLESHER e R.H. HAGEMANN. 1971. Generation of reduced nicotinamide for nitrate reduction in green leaves. Plant Physiol. Maryland. 48:580 - -590.
- LIBRANDI, M.Z.A. 1975. Determinação da atividade da nitrato redutase "in vivo" em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. (Feijoeiro). Jaboticabal, F.M.V.A.J. 43p. (Trabalho de Graduação).
- LOTT, N.L.; J.P. NERY; J. ROMANO GALLO e J.C. MEDCALF . 1956. A técnica de análise foliar aplicada ao cafeeiro. Campinas, IBEC Research Institute. (Boletim, 9).

- LOUË, A. 1958. A nutrição mineral e a fertilização de café robusta na Costa do Marfim. Fertilité 5:27-60.
- MALAVOLTA, E. 1959. Manual de Química Agrícola. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 487p.
- MALAVOLTA, E.; F.P. GOMES e T. COURY. 1958. Estudos sobre a alimentação mineral do cafeeiro (*Coffea arabica*, L. variedade Bourbon Vermelho). 1. Resultados preliminares. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". (Boletim, 14).
- MALAVOLTA, E.; H.P. HAAG; F.A.F. MELLO e M.O.C. BRASIL SOBR^o. 1974. Nutrição mineral e adubação de plantas cultivadas. São Paulo, Ed. Pioneira. 727p.
- MORAES, F.R.P. 1963. Adubação do cafeeiro. Campinas, 10p. (Mimeografado).
- MORAES, F.R.P. e R.A. CATANI. 1964. A absorção de elementos minerais pelo fruto do cafeeiro durante sua formação. Bragantia. Campinas, 23(6):331-336.
- MORAES, F.R.P. 1971. Adubação do cafeeiro. Piracicaba, 10p. (Mimeografado).
- MULDER, E.G.; R. BOXMA e W.L. VAN VEEN. 1959. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. Plant and Soil. Netherlands, 10:335.
- NEPTUNE MENARD, L. e O.S. CROCOMO. 1962. O ciclo do nitrogênio. O solo, Piracicaba, 54(11):9-72.

- NICHOLAS, J.C.; J.E. HARPER e R.H. HAGEMAN. 1976. Nitrate reductase activity in soybeans (*Glycine max* (L.) Merril). II. Energy limitations. Plant Physiol. Maryland, 58:736-739.
- PAULSEN, G.M. e J.E. HARPER. 1968. Evidence for a role calcium in nitrate assimilation in wheat seedlings. Plant Physiol. Maryland, 43:775-780.
- RAY, P.M. 1971. A planta viva. São Paulo, Ed. Livraria Pioneira. 161p.
- RITENOUR, G.L.; JOY, K.W.; BUNNING, J. e R.H. HAGEMAN 1967. Intracellular localization of nitrate reductase, nitrite reductase and glutamic acid dehydrogenase in green leaf tissue. Plant Physiol Maryland, 42:233-237.
- SAMUELS, G. 1957. Rev. Agric. Puerto Rico, 44:121.
- SHAKED, A. e A. BAR-AKIVA. 1967. Nitrate reductase activity as an indication of molybdenum level and requirement of citrus plant. Phytochemistry, 6:347
- STREETER, J.C. e M.E. BOSLER. 1972. Comparison of "in vivo" and "in vitro" assays for nitrate reductase in soybean leaves. Plant Physiol. Maryland, 49:448-450.
- VAGELERm P. 1935. Relatório da Secção de Solos. Campinas, Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo Secção de Solos.

10. ANEXO

QUADRO 1 - Dados referentes à Temperatura Média, Precipitação, Umidade Relativa e Insolação Mensal.

Meses	T (°C)	P (mm)	U.R. (%)	I (h)
Outubro - 71	22,7	128,1	63	104,5
Novembro	22,6	138,6	68	219,3
Dezembro	22,9	312,9	81	137,9
Janeiro - 72	23,4	299,6	77	199,4
Fevereiro	22,9	282,9	82	134,5
Março	23,9	117,5	77	246,8
Abril	20,5	57,1	72	258,0
Maio	20,3	99,5	69	266,1
Junho	19,6	3,1	63	260,8
Julho	17,8	135,7	69	211,0
Agosto	19,6	45,8	66	219,2
Setembro	21,7	93,7	64	225,1
Outubro	22,8	186,2	71	184,6
Novembro	23,5	201,2	78	121,4
Dezembro	24,2	197,1	73	181,2
Janeiro - 73	24,8	124,9	79	190,7
Fevereiro	25,3	109,5	76	215,7
Março	24,1	142,4	77	207,7
Abril	24,1	185,0	78	214,0
Maio	19,9	34,6	72	247,6

QUADRO 2 - Dados referentes à temperatura média, umidade relativa do ar, precipitação e insolação diária, nos meses de outubro, novembro e dezembro de 1971.

Dia	Mês: Outubro				Mês: Novembro				Mês: Dezembro			
	Temp. Média (°C)	UR %	Precipit. (mm)	Insol. (h)	Temp. Média (°C)	UR %	Precipit. (mm)	Insol. (h)	Temp. Média (°C)	UR %	Precipit. (mm)	Insol. (h)
01	20,6	82	1,6	1,4	18,5	94	89,4	0,0	24,0	74	-	10,6
02	22,0	78	-	4,6	20,6	77	-	5,3	23,8	78	35,5	8,3
03	21,7	72	28,5	5,4	20,3	86	3,1	5,5	22,9	82	36,8	0,7
04	22,1	79	0,7	6,5	22,6	59	-	11,8	20,4	87	0,3	0,2
05	23,1	70	-	10,1	23,1	49	-	11,8	21,8	75	-	4,8
06	21,3	74	20,9	9,7	24,7	49	-	10,4	21,6	66	-	10,5
07	17,7	93	18,4	0,3	23,0	52	-	11,8	22,9	76	18,5	10,0
08	22,3	70	-	10,4	23,2	64	0,2	9,3	11,1	90	12,4	1,3
09	24,7	61	-	10,2	24,5	65	-	8,1	21,8	89	0,9	2,3
10	25,1	62	0,9	9,8	25,8	59	-	11,2	23,2	84	2,9	5,2
11	21,3	87	20,4	1,6	25,2	59	-	10,9	24,4	80	10,3	7,1
12	20,2	83	0,9	1,9	24,1	67	-	3,4	23,0	88	14,4	1,1
13	18,3	66	-	10,2	20,2	86	-	0,0	23,1	87	4,4	5,3
14	20,4	64	-	11,1	21,4	64	-	11,2	21,9	89	6,1	0,4
15	19,3	80	23,7	7,6	24,4	66	-	12,3	22,5	79	-	2,1
16	21,5	75	2,4	9,7	24,8	58	-	11,8	24,1	73	-	1,7
17	21,9	71	-	10,5	25,0	64	-	7,1	24,6	79	-	8,7
18	21,9	63	-	11,6	25,0	73	12,3	10,8	22,9	89	24,5	5,7
19	22,5	57	-	11,3	20,7	81	-	0,0	23,8	83	2,4	5,1
20	22,4	51	-	11,6	20,4	52	-	11,1	24,9	80	-	7,4
21	23,0	45	-	10,7	18,7	68	-	2,7	24,1	83	8,8	4,3
22	22,3	51	-	2,0	18,4	74	-	0,0	23,5	88	9,0	0,4
23	22,2	63	-	9,1	19,6	73	-	0,0	22,8	88	53,9	0,8
24	24,5	62	0,7	10,1	21,1	78	3,6	2,4	20,0	87	0,9	0,3
25	23,3	78	5,7	6,7	23,3	68	-	11,3	20,1	91	51,6	0,3
26	21,9	72	-	11,8	24,8	65	1,7	10,4	21,1	90	18,9	0,0
27	23,4	68	-	10,7	23,5	74	-	9,8	22,5	82	-	0,3
28	21,2	80	1,8	7,7	22,9	74	11,3	2,8	24,1	76	-	4,1
29	22,2	69	-	9,9	23,3	73	8,4	10,2	24,6	75	0,4	6,3
30	22,4	60	-	10,8	24,0	78	8,6	5,9	24,4	68	-	4,5
31	23,5	57	1,5	6,4	-	-	-	-	25,0	66	-	8,1
Média	22,0	69	128,1	249,4	22,6	68	138,6	219,3	22,9	81	312,9	137,9

QUADRO 3 - Dados referentes à temperatura média, umidade relativa do ar, precipitação e insolação diária, nos meses de janeiro, fevereiro e março de 1972.

Dia	Mês: Janeiro				Mês: Fevereiro				Mês: Março			
	Temp. Média (°C)	UR %	Precipit. (mm)	Insol. (h)	Temp. Média (°C)	UR %	Precipit. (mm)	Insol. (h)	Temp. Média (°C)	UR %	Precipit. (mm)	Insol. (h)
01	24,6	71	1,2	9,5	21,1	84	4,6	3,4	22,5	78	-	6,4
02	23,2	73	-	5,6	23,7	74	0,8	6,1	23,1	79	0,4	7,0
03	23,5	76	25,7	10,3	23,4	82	49,4	3,1	23,5	75	-	11,1
04	24,2	73	-	11,8	21,6	88	0,4	0,0	24,4	75	8,4	8,1
05	25,0	71	-	11,8	22,3	86	-	3,3	23,1	82	9,9	2,5
06	25,4	70	-	10,6	22,6	83	16,8	2,2	22,4	83	3,3	2,5
07	24,4	75	43,8	9,3	23,3	81	7,4	2,2	24,0	77	-	10,9
08	22,6	83	0,3	5,3	23,5	80	9,9	5,8	24,0	75	5,7	8,8
09	22,9	83	20,8	3,7	23,6	81	-	5,3	24,2	72	0,7	10,3
10	22,1	79	-	1,8	24,5	78	16,5	7,3	23,0	82	1,8	5,3
11	21,3	78	20,3	2,7	23,2	82	-	7,1	22,5	89	9,3	4,3
12	22,6	75	3,8	6,7	23,1	81	-	0,0	22,0	81	-	3,8
13	24,1	73	-	5,3	23,1	79	-	1,8	24,6	77	-	10,4
14	22,4	81	-	7,5	21,8	86	7,8	4,8	25,5	74	-	10,7
15	24,7	68	-	12,4	21,8	86	24,1	2,8	26,5	74	-	9,9
16	25,9	63	-	12,2	23,8	75	1,1	7,2	25,9	76	0,3	7,8
17	25,3	68	-	12,1	24,2	76	0,4	9,6	25,9	75	-	8,6
18	25,1	64	-	15,7	24,2	78	-	6,3	23,1	80	-	1,1
19	25,8	65	-	11,1	22,8	75	42,8	8,2	22,9	80	-	7,5
20	24,4	73	0,2	5,7	20,6	95	39,4	0,0	23,7	82	0,4	13,8
21	25,3	70	0,5	5,2	21,3	92	13,5	0,8	22,6	68	-	9,3
22	22,1	89	72,1	0,3	24,0	86	7,0	5,0	24,4	75	-	10,8
23	21,5	89	49,5	0,5	24,4	82	-	6,3	24,4	76	16,0	10,3
24	21,3	85	1,6	0,7	22,3	89	14,6	4,8	25,2	72	-	10,9
25	22,9	80	4,7	6,3	24,3	79	3,4	6,8	26,1	72	7,1	9,3
26	21,8	90	24,5	0,8	22,6	86	0,3	0,7	23,2	79	1,0	9,4
27	22,4	83	5,1	3,8	23,8	80	22,3	7,0	22,7	78	-	9,3
28	22,3	85	3,2	2,8	21,8	81	-	8,4	23,8	73	-	11,2
29	23,0	79	2,5	6,8	20,9	73	-	8,2	24,8	73	-	9,7
30	20,9	90	4,3	0,6	-	-	-	-	23,9	68	-	7,7
31	22,1	80	15,5	7,5	-	-	-	-	23,2	83	53,7	9,8
Média	23,4	77	299,6	199,4	22,9	82	282,9	134,5	23,9	77	117,5	246,8

QUADRO 4 - Valôres referentes à atividade da nitrato redu_utase, expressos em absorbância, relativos à 1.^a amostragem (19/01/72).

Tratamen _{tos}	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	0,052	0,092	0,042	0,060	0,060	0,062
1	0,072	0,072	0,043	0,075	0,080	0,064
2	0,072	0,102	0,064	0,070	0,080	0,064
3	0,076	0,087	0,072	0,080	0,082	0,070
4	0,122	0,072	0,132	0,100	0,088	0,052
5	0,100	0,087	0,074	0,065	0,085	0,067
6	0,072	0,062	0,080	0,081	0,095	0,052

QUADRO 5 - Valôres referentes à atividade da nitrato redu_utase, expressos em µg de N-nitrito/g de tecido fresco/hora, relativos à 1.^a amostragem (19/01/72).

Tratamen _{tos}	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	0,0492	0,0815	0,0412	0,0557	0,0557	0,0573
1	0,0653	0,0653	0,0420	0,0678	0,0718	0,0589
2	0,0653	0,0895	0,0589	0,0637	0,0718	0,0589
3	0,0686	0,0774	0,0653	0,0718	0,0734	0,0637
4	0,1056	0,0653	0,1137	0,0879	0,0782	0,0492
5	0,0877	0,0774	0,0669	0,0597	0,0758	0,0613
6	0,0653	0,0573	0,0718	0,0776	0,0835	0,0492

QUADRO 6 - Análise de variância dos valores referentes à atividade da nitrato redutase, relativos à 1ª amostragem (19/01/72).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	5	0.00141	0.00028	1.64312
Tratamentos	6	0.00248	0.00041	2.39663*
Resíduo	30	0.00517	0.00017	-
Totais	41	0,00906	-	-

Coeficiente de variação (%) = 19.22
 * - significativo ao nível de 5%.

QUADRO 7 - Valores referentes à atividade da nitrato redutase, expressos em absorbância, relativos à 2ª amostragem (20/03/72).

Tratamentos	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	0,22	0,24	0,22	0,25	0,28	0,30
1	0,30	0,26	0,24	0,30	0,38	0,36
2	0,24	0,58	0,40	0,32	0,24	0,40
3	0,43	0,52	0,50	0,47	0,41	0,39
4	0,49	0,50	0,52	0,57	0,48	0,51
5	0,48	0,42	0,46	0,53	0,42	0,76
6	0,31	0,36	0,30	0,40	0,46	0,35

QUADRO 8 - Valores referentes à atividade da nitrato redutase, expressos em μg de N-nitrito/g de tecido fresco/hora relativos à 2ª amostragem (20/03/72).

Tratamentos	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	0,1846	0,2007	0,1846	0,2088	0,2330	0,2491
1	0,2491	0,2169	0,2007	0,2491	0,3136	0,2575
2	0,2007	0,4748	0,3297	0,2652	0,2007	0,3297
3	0,3539	0,4264	0,4103	0,3661	0,3378	0,3216
4	0,4022	0,4103	0,4264	0,4667	0,3942	0,4184
5	0,3542	0,3458	0,3781	0,4345	0,3458	0,2975
6	0,2572	0,2975	0,2491	0,3297	0,3781	0,2894

QUADRO 9 - Análise de variância dos valores referentes à análise da nitrato redutase, relativas à 2ª amostragem (20/03/72).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	5	0.00781	0.00174	0.69881
Tratamentos	6	0.19894	0.03315	13.29542*
Resíduo	30	0.07481	0.00249	-
Totais	41	0,28246	-	

Coeficiente de variação (%) = 15.83

* - significativo ao nível de 5%.

QUADRO 10 - Produção de café em côco expressa em kg por tratamento relativo à 1ª produção (24/05/72).

Tratamentos	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	0,84	0,67	0,71	0,58	0,77	0,65
1	0,64	0,70	0,64	0,89	0,63	0,80
2	0,66	0,99	1,07	0,76	0,83	0,97
3	1,18	1,40	1,38	1,23	1,21	1,23
4	2,30	2,14	2,12	2,15	2,19	1,94
5	1,57	1,36	1,15	1,49	1,37	1,44
6	0,97	0,85	1,07	0,96	1,04	1,16

QUADRO 11 - Análise de variância dos valores da produção de café em côco relativa à 1ª produção (24/05/72).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	5	0.00	0.00	0.01
Tratamentos	6	9.10	1.51	94.81 *
Resíduo	30	0.48	0.01	
Totais	41	1.58	-	

Coefficiente de variação = 10.88

* Significativo ao nível de 5%.

QUADRO 12 - Produção de café em côco expressa em kg por tratamento relativa à 2ª produção (04/05/73).

Tratamentos	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	7,40	7,50	6,80	7,80	7,20	6,50
1	7,50	8,70	8,50	6,70	7,20	7,70
2	8,50	10,00	8,50	7,50	9,00	8,70
3	6,50	6,80	9,40	11,80	11,50	7,80
4	8,30	11,00	12,00	7,20	9,20	7,40
5	10,20	10,00	10,80	12,50	9,20	9,50
6	11,80	10,00	10,80	12,50	9,30	9,50

QUADRO 13 - Análise de variância dos valores da produção de café em côco relativa à 2ª produção (04/05/73).

Causas de Variação	GL	SQ	OM	F
Blocos	5	9.57	1.91	0,97
Tratamentos	6	57.57	9.60	4,87*
Resíduo	30	59.05	1.97	-
Totais	41	126.19	-	-

Coefficiente de variação (%) = 15,72.

* Significativo ao nível de 5%.

QUADRO 14 - Rendimento do café colhido, resultante da 1.^a produção (24/05/72).

Tratamentos	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	20,21	21,00	21,10	21,50	21,25	20,00
1	20,50	21,80	20,20	21,50	20,00	21,40
2	20,45	21,00	22,20	21,40	21,10	20,02
3	20,75	21,25	20,40	20,45	22,00	20,40
4	21,20	21,80	21,00	21,20	21,00	20,20
5	21,50	21,25	21,20	21,00	20,50	21,40
6	21,95	21,50	20,00	20,02	20,10	21,80

QUADRO 15 - Análise de variância dos valores relativos ao rendimento do café colhido na 1.^a produção (24/05/72).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	5	1.65	0.33	0.69 NS
Tratamentos	6	0.50	0.08	0.17 NS
Resíduo	30	14.17	0.47	
Total	41	16.27	-	

Coeficiente de variação (%) = 3,27

NS = Não Significativo.

QUADRO 16 - Rendimento do café colhido, resultante da 1ª produção (24/05/72).

Tratamentos	1º Bloco	2º Bloco	3º Bloco	4º Bloco	5º Bloco	6º Bloco
T	17,00	20,00	20,00	18,00	18,00	19,00
1	17,50	17,00	20,00	17,00	19,00	18,00
2	17,50	19,00	18,50	18,20	16,80	19,00
3	19,00	17,50	18,00	20,00	17,50	18,00
4	18,00	18,10	18,00	17,50	17,50	17,50
5	20,10	18,80	17,80	17,20	18,00	19,00
6	18,00	17,50	18,20	19,00	18,10	18,00

QUADRO 17 - Análise de variância dos valores relativos ao rendimento do café colhido na 2ª produção (04/05/73).

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	5	2,47	0,49	0,53 NS
Tratamentos	6	3,08	0,51	0,55 NS
Resíduo	30	27,68	0,93	-
Tótal	41	33,23	-	-

Coeficiente de variação (%) = 5,05

NS = Não Significativo.