

**FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a* DE MINI-MELANCIEIRA SOB
ESTRATÉGIAS DO USO DA ÁGUA SALINAS E POTÁSSIO**

Vera Lúcia Antunes de Lima¹, Saulo Soares da Silva², Geovani Soares de Lima¹, Lauriane Almeida dos Anjos Soares³, Janine Patrícia Melo Oliveira⁴, Francisco Wesley Alves Pinheiro²

RESUMO: A região semiárida do Nordeste do Brasil apresenta altas temperaturas e distribuição irregular das chuvas, fazendo necessário a adoção da irrigação para produzir com segurança. Entretanto, boa parte das fontes de água disponíveis para irrigação apresentam altas concentrações de sais que prejudica as plantas. Dessa forma, a busca por alternativas de mitigação do estresse é de fundamental importância. Ante o exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a fluorescência da clorofila *a* de mini-melancia ‘Sugar Baby’ cultivada sob estratégias do uso da água salina e doses de potássio. A pesquisa foi desenvolvida em vasos sob condições de casa-de-vegetação em Campina Grande, PB, utilizando-se o delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 3×3 , correspondendo a três estratégias do uso da água salina (Irrigação com água de elevada salinidade nas fases vegetativa, floração e frutificação) e três doses de potássio (50, 100 e 150% da recomendação de K_2O) com três repetições. A adubação com 100% correspondeu a $150 \text{ mg } K_2O \text{ kg}^{-1}$ de solo. O estresse salino durante as fases de floração e de frutificação causou danos ao aparato fotossintético das plantas de mini-melancia ‘Sugar Baby’. A adubação com 50% da recomendação de K_2O diminuiu a fluorescência inicial nas plantas de mini-melancia ‘Sugar Baby’. A irrigação com águas salinas nas fases vegetativa e frutificação e o incremento nas doses de potássio reduziram a fluorescência máxima e variável das plantas de mini-melancia ‘Sugar Baby’.

PALAVRAS-CHAVE: salinidade, adubação potássica, *Citrullus lanatus* L.

¹ Prof. (a) Dr. (a), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, CEP 58429-900, Campina Grande, PB. Fone: (83) 98874-0779; E-mail: vera.antunes.ufcg@gmail.com; geovani.soares@pq.cnpq.br

² Discente do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, CEP 58429-900, Campina Grande, PB. E-mail: saulosoares90@gmail.com; wesley.ce@hotmail.com

³ Profa. Dra., Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias, UFCG, Pombal, PB, Brasil. E-mail: lauriane.soares@pq.cnpq.br

⁴ Discente do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Campina Grande, CEP 58429-900, Campina Grande, PB. E-mail: janineeng.alimentos@gmail.com

FLUORESCENCE OF MINI-WATERMELON CHLOROPHYLL a UNDER STRATEGIES FOR THE USE OF SALINE WATER AND POTASSIUM

ABSTRACT: The semi-arid region of Northeast Brazil presents high temperatures and irregular distribution of rainfall, making it necessary to adopt irrigation to produce safely. However, most of the water sources available for irrigation have high concentrations of salts that harm the plants. Thus, the search for stress mitigation alternatives is of fundamental importance. Given the above, the aim of this study was to evaluate the fluorescence of chlorophyll a from 'Sugar Baby' mini-watermelon cultivated under strategies of using saline water and potassium doses. The research was carried out in pots under greenhouse conditions in Campina Grande, PB, using a randomized block design, in a 3×3 factorial scheme, corresponding to three strategies for the use of saline water (Irrigation with water with high salinity in the vegetative, flowering and fruiting stages) and three doses of potassium (50, 100 and 150% of the K_2O recommendation) with three repetitions. Fertilization with 100% corresponded to $150 \text{ mg } K_2O \text{ kg}^{-1}$ of soil. Salt stress during flowering and fruiting stages caused damage to the photosynthetic apparatus of 'Sugar Baby' mini watermelon plants. Fertilization with 50% of the K_2O recommendation decreased the initial fluorescence in 'Sugar Baby' mini-watermelon plants. Irrigation with saline water in the vegetative and fruiting phases and the increase in potassium doses reduced the maximum and variable fluorescence of 'Sugar Baby' mini-watermelon plants.

KEYWORDS: salinity, potassium fertilization, *Citrullus lanatus* L.

INTRODUÇÃO

A melancia (*Citrullus lanatus* L.) é uma cultura pertencente à família Cucurbitaceae, e no Brasil destaca-se como uma das hortaliças mais cultivadas (NUNES et al., 2017). É uma hortaliça bastante cultivada por pequenos produtores, devido a demanda pelo produto fresco e o preço de mercado, um perfil no qual está comumente presente nas regiões semiáridas do Nordeste (SOUSA et al., 2019).

Entretanto, nesta região é comum a ocorrência de altas temperaturas e distribuição irregular das chuvas, além do predomínio de rochas cristalinas no subsolo, que impõem condições salobras e salinas às águas subterrâneas, em que períodos de escassez hídrica, estas passam a ser a única opção para produção agrícola (CRUZ et al., 2016). Em altas concentrações, os sais podem causar efeitos deletérios sobre as plantas, prejudicando seus aspectos fisiológicos

e bioquímicos (HANIN et al., 2016; TAÏBI et al., 2016), e provocar mudanças nas características dos sinais de fluorescência (SILVA et al., 2011) e funcionamento do fotossistema II (PSII). Todavia, a sensibilidade das plantas ao estresse salino, varia de acordo com a espécie, concentração e natureza iônica dos sais, período de exposição, estágio de desenvolvimento, disponibilidade de nutrientes, como N, P e K, e sua interação (ASHRAF & HARRIS, 2004; ESTEVES & SUZUKI, 2008).

Nesse contexto, o desenvolvimento de práticas de manejo como a adubação potássica e a identificação de estádios de desenvolvimento em que a cultura é mais tolerante ou sensível à salinidade, é muito importante para reduzir os impactos da salinidade sobre as plantas. Outro aspecto a ser considerado é adubação potássica como alternativa para reduzir o estresse salino sobre as plantas, devido as funções que este elemento exerce na ativação enzimática, respiração, fotossíntese e melhoria no balanço hídrico, bem como competição catiônica com Na^+ (ALMEIDA et al., 2017).

Ante o exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a fluorescência da clorofila *a* de mini-melanciaira ‘Sugar Baby’ cultivada sob estratégias do uso da água salina e doses de potássio.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado de outubro a dezembro de 2017, sob condições de casa de vegetação, na Universidade Federal de Campina Grande, em Campina Grande -PB, Brasil (7°15'18'S, 35°52'18'W e altitude média de 550 m). A temperatura e a umidade relativa média na casa de vegetação ao longo do período experimental foi de 24,10°C e 73,17%, respectivamente.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 3 × 3, com três repetições, sendo três estratégias de manejo do uso da água salina – EUS (VE, FL, e FR respectivamente, irrigação com água salina nas fases vegetativa, floração e frutificação) associados a três doses de potássio - DK (50, 100 e 150% da recomendação). A dose de 100% corresponde a 100 mg de K_2O kg^{-1} de solo (NOVAIS et al., 1991). Como fonte de potássio foi utilizada o cloreto de potássio, fornecido via fertirrigação em três aplicações iguais, aos 23, 37 e 46 dias após o semeio (DAS).

As estratégias de manejo da irrigação com água salina consistiram de dois níveis de condutividade elétrica (CEa), sendo um de baixa (CEa = 0,8 dS m^{-1}) e outro com alta (CEa = 4,0 dS m^{-1}) salinidade, variando de acordo às fases fenológicas das plantas: vegetativa - período

entre o surgimento da segunda folha verdadeira até a emissão da primeira flor feminina (14-34 DAS); floração – da primeira flor feminina até a fecundação (35-43 DAS); e frutificação – da fecundação até enchimento dos frutos (44-58 DAS).

A salinidade da água de 0,8 dS m⁻¹ (controle) e 4,0 dS m⁻¹ são os níveis comumente observadas na região semiárida do Nordeste Brasil. Assim, a condutividade elétrica de 4,0 dS m⁻¹ é um valor maior que o nível de salinidade limiar da água (3,0 dS m⁻¹) para a cultura da melancia (AYERS & WESTCOT, 1999) e teve como objetivo induzir uma estresse osmótico e/ou iônico nas plantas para identificar a(s) fase(s) de maior tolerância e/ou sensibilidade ao estresse salino.

A cultura utilizada foi à mini-melancieira ‘Sugar Baby’, a qual destaca-se pelo ciclo precoce, com a colheita realizada a partir dos 75 dias após a semeadura. É uma planta rústica, com folhagem vigorosa e tolerante a temperaturas elevadas. Apresenta frutos redondos, com casca verde escura, com peso variando em torno de 2 a 4 kg. Possui polpa com alto teor de açúcar, macia e com coloração vermelho intenso.

As plantas foram cultivadas em recipientes plásticos adaptados como lisímetros de drenagem com 20 L de capacidade. Na base foi colocada uma camada de 3 cm de espessura de brita e uma manta geotêxtil para evitar a obstrução do sistema de drenagem. Cobrindo a superfície da base do recipiente, foi instalada uma mangueira transparente de 4 mm de diâmetro conectada à sua base, de modo a facilitar a drenagem, sendo acoplada a um recipiente plástico para coleta da água drenada. Em seguida, foram acondicionados 24 kg de um Neossolo (*Entisol*) de textura franco-arenosa, coletado na profundidade de 0-30 cm, proveniente do município de Lagoa Seca PB, cujos atributos físico-químicos, foram determinados conforme Teixeira et al. (2017): Ca²⁺ = 2,60 cmol_c kg⁻¹ ; Mg²⁺ = 3,66 cmol_c kg⁻¹ ; Na⁺ = 0,16 cmol_c kg⁻¹ ; K⁺ = 0,22 cmol_c kg⁻¹ ; H⁺ + Al³⁺ = 1,93 cmol_c kg⁻¹ ; CTC = 8,57 cmol_c kg⁻¹ ; matéria orgânica = 1,36 dag kg⁻¹ ; P = 6,8 mg kg⁻¹ ; pH em água (1:2,5) = 5,90; condutividade elétrica do extrato de saturação do solo = 0,19 dS m⁻¹ ; areia = 732,9 g kg⁻¹ ; silte = 142,1 g kg⁻¹ ; argila = 125 g kg⁻¹ ; umidade a 33,42 kPa = 11,98 dag kg⁻¹ ; umidade a 1519,5 kPa = 4,32 dag kg⁻¹.

As adubações com fósforo e nitrogênio foram realizadas conforme recomendação contida em Novais et al. (1991), sendo aplicado 300 e 100 mg kg⁻¹ de solo de P₂O₅ e N, respectivamente, nas formas de superfosfato simples (triturado para facilitar sua aplicação) e nitrato de cálcio. A recomendação de P₂O₅ e Ca(NO₃)₂ foi aplicada em cobertura, dividido em três aplicações iguais aos 15, 32 e 42 DAS para P, enquanto o N foi aplicado aos 19, 35 e 44 DAS. As aplicações de micronutrientes foram realizadas aos 27, 34, e 46 DAS utilizando-se solução de Ubyfol[®] (Mg²⁺ = 1,1%; Boro = 0,85%; Cobre (Cu-EDTA) = 0,5%; Ferro (Fe-EDTA) = 3,4 %; Manganês (Mn-

EDTA) = 3,2%; Molibdênio = 0,05%; Zinco = 4,2%; contém 70% de agente quelante EDTA) na concentração de 1,5 g L⁻¹.

A água utilizada na irrigação de menor nível salino (0,8 dS m⁻¹) foi obtida diluindo-se a água do sistema público de abastecimento de Campina Grande (CEa = 1,21 dS m⁻¹), com água captada de chuvas (CEa=0,02 dS m⁻¹); o nível correspondente à CEa de 4,0 dS m⁻¹ foi preparado adicionando-se sais na forma de cloreto, de modo a se obter uma proporção equivalentes de 7:2:1, entre Na:Ca:Mg, respectivamente, relação esta predominante em fontes de água utilizada para irrigação, em pequenas propriedades do Nordeste do Brasil. O maior nível de salinidade da água de irrigação foi preparado considerando-se a relação entre CEa e concentração de sais, de acordo com Richards (1954), conforme a Eq. 1:

$$Q \text{ (mmolc L}^{-1}\text{)} = 10 \times CEa \text{ (dS m}^{-1}\text{)} \quad (1)$$

Em que: Q = Quantidade de sais a ser aplicado (mmol_c L⁻¹); CEa = Condutividade elétrica da água (dS m⁻¹).

A semeadura foi realizada com quatro sementes por lisímetro a 3 cm de profundidade e distribuídas de forma equidistante. Antes do semeio elevaram-se o teor de umidade do solo ao nível correspondente ao da capacidade de campo, utilizando-se água de baixa salinidade (0,8 dS m⁻¹). Após a semeadura, as irrigações foram realizadas diariamente, às 17 horas, aplicando-se, em cada recipiente, o volume correspondente ao obtido pelo balanço de água, cujo volume de água a ser aplicado nas plantas foi determinado pela Eq. 2:

$$VI = \frac{(Va - Vd)}{(1 - FL)} \quad (2)$$

Onde: VI = Volume de água a ser usado no próximo evento de irrigação (mL); Va = volume aplicado no evento de irrigação anterior (mL); Volume de Vd drenado (mL) e FL = fração de lixiviação de 0,2.

Aos 14 DAS, iniciou-se a aplicação da água de maior nível salino, conforme os tratamentos estabelecidos.

As plantas foram tutoradas verticalmente, deixando-se o ramo principal e três ramos laterais por planta. A polinização foi realizada de forma artificial, com o uso de uma haste flexível, retirando-se o pólen e transportando-o para o estigma, entre às 06 h00min e 07h00min. Após a fecundação das flores realizou-se um raleio, deixando-se apenas um fruto por planta.

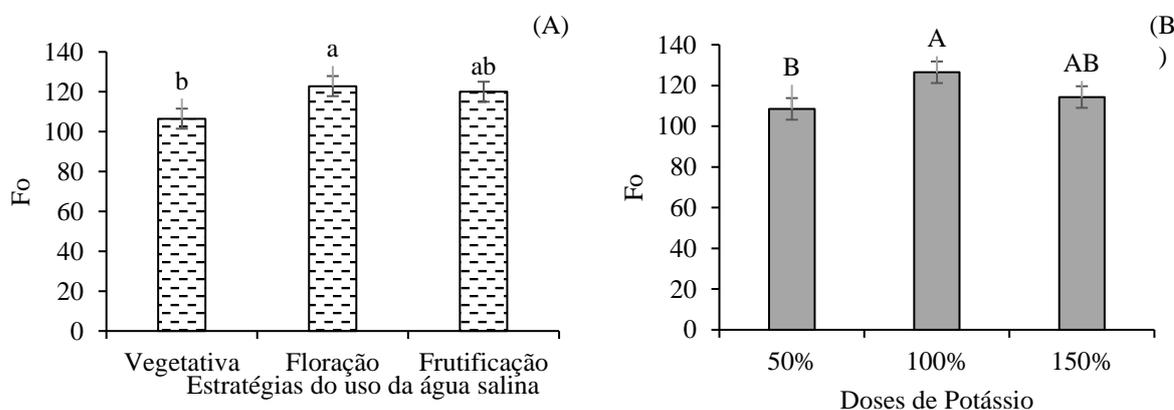
A fluorescência da clorofila *a* da mini-melanciaira foi avaliada na fase de frutificação (55 DAS), utilizando-se um fluorômetro de pulso modulado (modelo OS5p da Opti Science), afim de determinar as variáveis de indução de fluorescência: Fluorescência inicial (Fo), Fluorescência máxima (Fm), Fluorescência variável (Fv = Fm - Fo) e eficiência quântica do

fotossistema II (Fv/Fm); tal protocolo foi realizado após adaptação das folhas no escuro por 30 minutos, utilizando-se de pinças contidas no equipamento, de modo a garantir que todos os aceptores primeiros estejam oxidados, ou seja, garantindo que os centros de reação estejam abertos.

Os dados obtidos foram avaliados mediante análise de variância pelo teste ‘F’. Nos casos de significância, foi realizado o teste de comparação de médias por Tukey ($p < 0,05$) para as estratégias de manejo da salinidade e para as doses de potássio utilizando-se o software Sisvar (FERREIRA, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estratégias do uso da água salina (EUS) influenciaram a fluorescência inicial – Fo (Figura 1A). As plantas irrigadas com água de elevada salinidade na fase de floração obtiveram maiores valores de Fo, porém não diferiram das cultivadas sob estresse salino na fase de frutificação. Normalmente as plantas quando estão sob situação de estresse, como o estresse salino, tendem a aumentar a Fo devido a danos nas proteínas D1 do fotossistema II (PSII) e por meio não fotoquímico na redução da quinona pelo NADPH, disponível nos cloroplastos (RUMEAU et al., 2007; Dias & Marengo, 2007).



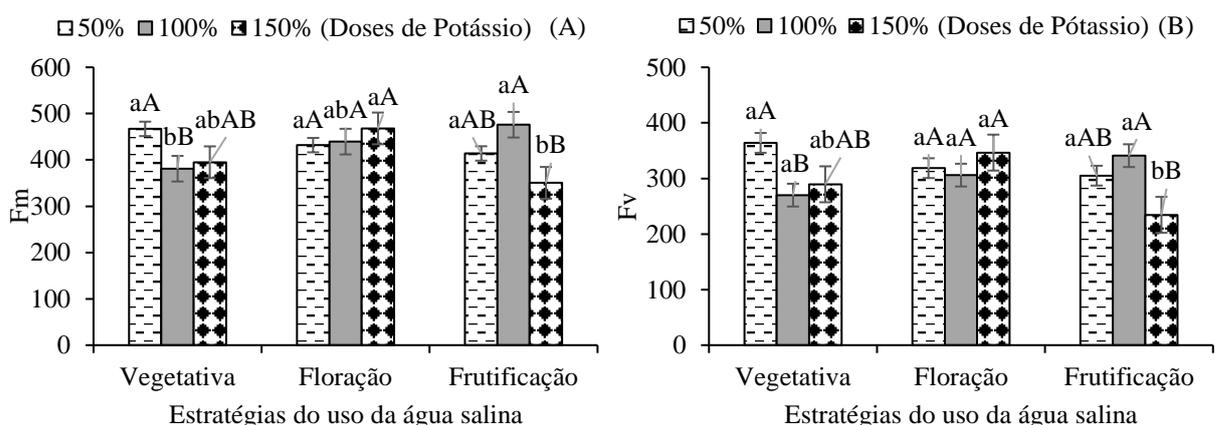
Médias seguidas por letras diferentes apresentam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste F ($p < 0,05$). Barra vertical representa o erro padrão da média ($n=3$).

Figura 1. Fluorescência inicial – Fo de mini-melanchieira ‘Sugar Baby’ em função das estratégias de uso da água salina (A) e das doses de potássio (B) aos 55 dias após a semeadura.

A dose de 100% da recomendação de potássio (DK) favoreceu maior Fo (Figura 1B) das plantas de mini-melanchieira (Figura 2B), porém não diferiu das adubadas com 150% da recomendação. O acréscimo ocorrido na Fo com o incremento nas doses de K pode ter causado danos ao aparato fotossintético das plantas, conforme mencionado anteriormente por Rumeau et al. (2007) e Dias & Marengo (2007). Além disso, a fonte de potássio utilizada neste estudo

(KCl) que possui um alto índice salino (116,3), pode ter ocasionado distúrbios fisiológicas e/ou metabólicas nas plantas (PRAZERES et al., 2015).

A fluorescência máxima – Fm (Figura 2A) foi influenciada significativamente pela interação (EUS × DK) entre os fatores estudados. Para o desdobramento das EUS dentro das DK, verifica-se que as plantas adubadas com 100% da recomendação e estresse na fase vegetativa apresentaram menores valores de Fm quando comparadas as que receberam água de elevada salinidade na fase de frutificação. Já as plantas adubadas com 150% de K e irrigadas com água salina na fase de frutificação obtiveram os menores valores de Fm, porém não diferiram das cultivadas sob irrigação com água de elevada CEA na fase vegetativa. No desdobramento das DK dentro das EUS para Fm (Figura 2A), verificou-se diferenças significativas para as plantas sob estresse nas fases vegetativa e frutificação. As plantas irrigadas com água de elevada salinidade na fase vegetativa, a dose de 100% de K proporcionou menores valores de Fm, entretanto não diferiu das que receberam 150% da recomendação de K. Já as plantas sob estresse na fase de frutificação, a dose de 150% de K proporcionou menores valores de Fm, porém não diferiu da dose de 50% de K. A fluorescência variável (Figura 2B) também foi influenciada significativamente pela interação (EUS × DK) entre os fatores estudados. Para o desdobramento das EUS dentro das DK, houve resultado semelhante ao observado para Fm, onde as plantas adubadas com 150% de K e irrigadas com água de elevada salinidade na fase de frutificação obtiveram os menores valores de Fv, porém não diferiram das que receberam na fase vegetativa. No desdobramento das DK dentro das EUS, verifica-se para Fm (Figura 2B), que os resultados obtidos foram semelhantes ao ocorrido na Fm (Figura 2A).



Medias com letras idênticas indica não haver diferenças significativas entre estratégias de manejo da irrigação com água salina (Tukey, $p < 0,05$). Letra maiúscula idêntica compara medias na mesma dose de potássio, e minúscula idêntica na mesma estratégia de manejo da irrigação, indica não haver diferença significativa entre estratégias de manejo da irrigação com água salina (Tukey, $p < 0,05$) e doses de potássio (Tukey, $p < 0,05$), respectivamente

Figura 2. Desdobramento da interação entre as estratégias do uso da água salina e as doses de potássio para fluorescência máxima – Fm (A) e fluorescência variável – Fv (A) de mini-melancieira ‘Sugar Baby’ aos 55 DIAS após a semeadura.

Em geral, as plantas sob estresse salino nas fases vegetativa e frutificação associado ao incremento nas doses de K tiveram reduções nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a*. As reduções ocorridas na *Fm* e *Fv* pode ser considerado um efeito indireto do estresse salino, devido ao fechamento estomático promover menor influxo de CO₂, comprometimento da cadeia de transporte de elétrons e superprodução de redução do poder de NADPH, que possivelmente aumenta o radical superóxido e induzir a geração de espécies reativas de oxigênio, prejudicando o aparato fotoquímico (MILLER et al., 2010).

CONCLUSÕES

A adubação com 50% da recomendação de K₂O diminui a fluorescência inicial nas plantas de mini-melancia ‘Sugar Baby’. A irrigação com água de elevada salinidade nas fases vegetativa e de frutificação e o incremento nas doses de potássio reduziram a fluorescência máxima e variável das plantas de mini-melancia ‘Sugar Baby’.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. M.; OLIVEIRA, M. M.; SAIBO, N. J. M. Regulation of Na⁺ and K⁺ homeostasis in plants: Towards improved salt stress tolerance in crop plants. **Genetics and Molecular Biology**, v. 40, p. 326-345, 2017.
- ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.
- AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. 2.ed. Campina Grande: UFPB, 1999. 153p. FAO. Estudos de Irrigação e Drenagem, 29 revisado.
- CRUZ, F. R. da S.; ANDRADE, L. A. de; ALVES, E. U. Estresse salino na qualidade fisiológica de sementes de *Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne. **Ciência Florestal**, v. 26, p. 1189-1199, 2016.
- DIAS, D. P.; MARENCO, R. A. Efeito da nebulosidade nos parâmetros da fluorescência em *Minuartia guianensis* Aubl. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 54-56, 2007.
- ESTEVEES, B. dos S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, p. 662-679, 2008.

- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista brasileira de biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019.
- HANIN, M.; EBEL, C.; NGOM, M.; LAPLAZE, L.; MASMOUDI, K. New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-17, 2016.
- MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S. R. M. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant Cell Environ.** v. 33, p. 453-467, 2010.
- NOVAIS, R. F., NEVES, J. C. L., BARROS, N. F. **Ensaio em ambiente controlado**. In: OLIVEIRA A. J. Métodos de pesquisa em fertilidade do solo. Brasília: Embrapa-SEA. p.189-253. 1991.
- NUNES, F. C. A. P.; MOUSINHO, F. E. P.; OLIVEIRA, J. R.; LIMA, C. J. G. S.; FERREIRA, V. M. Viabilidade econômica do cultivo irrigado da melancia no estado do Piauí. **Irriga**, v. 22, n. 1, p. 101-114, 2017.
- PRAZERES, S. S.; LACERDA, C. F. de; BARBOSA, F. E. L; AMORIM, A. V.; ARAUJO, I. C. da S.; CAVALCANTE, L. F. Crescimento e trocas gasosas de plantas de feijão-caupi sob irrigação salina e doses de potássio. **Revista Agro@mbiente Online**, v. 9, p. 111-118, 2015.
- RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkali soils**. Washington: U. S. Department of Agriculture. 160p. (USDA, Agriculture Handbook, 60). 1954.
- RUMEAU, D.; PELTIER, G.; COURNAC, L. Chloro respiration and cyclic electron flow around PSI during photosynthesis and plant stress response. **Plant Cell Environment**, v. 30, p. 1041-1051, 2007.
- SILVA, E. N. da; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; GOMES SILVEIRA, J. A. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. **Scientia Agrícola**, v. 68, p. 62-68, 2011.
- SOUSA, V. F.; NUNES, G. M. V. C; ZONTA, J. B. **Importância socioeconômica da melancia**. In: SOUSA, V. F. et al. (Eds.). Tecnologias para a produção de melancia irrigada na Baixada Maranhense. São Luís, MA: Embrapa Cocais, Série Documentos, 5, p. 15-21. 2019.
- TAÏBI, K.; TAÏBI, F.; AIT ABDERRAHIM, L.; ENNAJAH, A.; BELKHODJA, M.; MULET, J. M. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 306-312, 2016.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**. 3.ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 573p.