EDSON APARECIDO DOS SANTOS

MICRORGANISMOS DO SOLO NO MANEJO INTEGRADO DE PLANTAS DANINHAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

EDSON APARECIDO DOS SANTOS

MICRORGANISMOS DO SOLO NO MANEJO INTEGRADO DE PLANTAS DANINHAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 19 de fevereiro de 2009

Prof. Antonio Alberto da Silva (Coorientador)	Prof. Mauricio Dutra Costa (Coorientador)
Prof. Geraldo Antônio de Andrade Araújo	Evander Alves Ferreira

Lino Roberto Ferreira
(Orientador)

"O que deve caracterizar a juventude é a modéstia, o pudor, o amor, a moderação, a dedicação, a diligência, a justiça e a educação. São estas as virtudes que devem formar o seu caráter."

Sócrates

À minha mãe Maria Marta e a meu pai Sebastião, pelos inúmeros valores, pelo exemplo de ser humano e a certeza de que o trabalho, a honestidade e a humildade tornam qualquer pessoa completamente feliz.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é apresentado por mim, porém só foi possível graças à contribuição honrosa de vocês:

Minha perfeita namorada Eliane, pelo apoio nos momentos de dificuldade e pelos grandes abraços nos sucessos.

Meus amados irmãos José Barbosa, Gorete, Arnaldo, Maria, Inês, José Carlos e Elizângela. Meus sobrinhos Vitor, Arthur, Henrique e Nayara. Meus cunhados Alyne e Edinho. Obrigado por formarem minha família.

Meu Orientador, Prof. Lino Roberto Ferreira, pelo apoio acadêmico superior, pela compreensão durante toda nossa convivência universitária e principalmente pela amizade que mantemos.

Os professores Mauricio Dutra Costa e Antonio Alberto da Silva, pela enorme contribuição científica somada a conselhos e apoio.

O professor Francisco Affonso Ferreira e a professora Maria Catarina Megumi Kasuya, pela fundamental prontidão e competência na sanação de dúvidas.

Meus amigos (as) de laboratório, Alessandra, Alexandre, André, Aroldo, Cintia, Evander, Ignacio, Leandro, Leonardo, Luis, Marcelo, Marco, Marliane, Paulo, Rafael Tibúrcio, Rafael Viana e Siumar. Pela excelente ajuda na UFV, pelos dias de sol e pelos dias de chuva.

Aos meus inesquecíveis amigos de república: Bruno, Cristiano, Daniel, Diovane, Emerson, Erick, Fazollo, Guilherme, Jaziel, Leonardo, Leonel, Marcelo e Walmir. Pelas piadas, os momentos de entretenimento e todo aquele apoio de amizade que vocês sempre concederam.

Meus grandes colegas de trabalho: Clênio, Cristiano, Daniella, Henrique, Lamounier, Marcio, Ricardo e Rita. Pelo companheirismo e exemplar profissionalismo.

Universidade Federal de Viçosa, pelo seu apoio à pesquisa, seu acolhimento a todos os estudantes e sua campeã competência em ensino no Brasil.

CNPq, pelo apoio à pesquisa e incentivo ao desenvolvimento científico estudantil.

Todos os outros familiares e todos que de alguma forma contribuíram por este trabalho. Certamente tiveram papel fundamental em mais esta etapa de minha vida.

BIOGRAFIA

Edson Aparecido dos Santos, filho de Sebastião das Graças dos Santos e Maria Marta Barbosa dos Santos, nasceu no dia 10 de junho de 1983 na cidade de São Paulo – SP

Iniciou o curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, no ano de 2002, tornando-se Engenheiro Agrônomo em 2007, ano em que foi aprovado no concurso para mestrado em Fitotecnia na mesma instituição, submetendo-se a defesa da dissertação em fevereiro de 2009.

SUMÁRIO

RESUMO vi
ABSTRACT viii
1. INTRODUÇÃO GERAL 1
1.1 - LITERATURA CITADA 3
2. ATIVIDADE RIZOSFÉRICA DURANTE PROCESSO DE REMEDIAÇÃO POR *Stizolobium aterrimum* DE SOLO TRATADO COM HERBICIDA 6
2.1 - RESUMO 6
2.2 - ABSTRACT 6
2.3 - INTRODUÇÃO 7
2.4 - MATERIAL E MÉTODOS 8
2.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO 10
2.6 - LITERATURA CITADA 13
3. EFEITO DA FUMIGAÇÃO DO SOLO NO CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DE ESPÉCIES DANINHAS E CULTURAS 19
3.1 - RESUMO 19
3.2 - ABSTRACT 19
3.3 - INTRODUÇÃO 20
3.4 - MATERIAL E MÉTODOS 22
3.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO 23
3.6 - LITERATURA CITADA 26
4. OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS NAS RAÍZES DE PLANTAS DANINHAS E POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO INORGÂNICO DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA ASSOCIADA 32
4.1 - RESUMO 32
4.2 - ABSTRACT 32
4.3 - INTRODUÇÃO 33
4.4 - MATERIAL E MÉTODOS 36
4.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO 38
4.6 - LITERATURA CITADA 40
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 47

RESUMO

SANTOS, Edson Aparecido. M. Sc., Universidade Federal de Viçosa. Fevereiro de 2009. **Microrganismos do solo no manejo integrado de plantas daninhas.** Orientador: Lino Roberto Ferreira. Coorientadores: Mauricio Dutra Costa e Antonio Alberto da Silva.

Com o objetivo de avaliar aspectos da relação planta microrganismo no manejo integrado de plantas daninhas, seguiu-se ao desenvolvimento de três trabalhos. No primeiro avaliou-se a capacidade de descontaminação de solo tratado com trifloxysulfuron-sodium pela biota rizosférica da espécie vegetal *Stizolobium aterrimum*. Neste ensaio, cultivaram-se plantas de *S. aterrimum* em solo contaminado com o herbicida e, coletando-se amostras de solo rizosférico quinzenalmente, estimou-se a respiração do solo e o carbono da biomassa microbiana. Utilizou-se sorgo como planta indicadora do resíduo do herbicida no substrato e análise por cromatografia líquida de alta eficiência. No segundo ensaio, avaliou-se o desenvolvimento e o acúmulo de nutrientes em oito espécies de plantas daninhas e nas culturas de milho e feijão, quando em desenvolvimento em solo fumigado com brometo de metila. No terceiro experimento, verificou-se a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em 36 plantas daninhas e, dentre aquelas de maior valor de importância, determinou-se o potencial de solubilização de fosfato inorgânico pela microbiota a elas associada. No primeiro ensaio, observou-se que a microbiota rizosférica de *S. aterrimum* é sensível ao trifloxysulfuron-sodium, constituindo-se em indicador microbiológico de distúrbios causados por esse herbicida no ambiente. 45 dias de desenvolvimento foram suficientes para que *S. aterrimum* promovesse a diminuição do resíduo de trifloxysulfuron-sodium a um nível não tóxico à planta indicadora. As gramíneas apresentaram maior produção de matéria seca do que as dicotiledôneas quando cultivadas em solo fumigado, sendo *Conyza bonariensis* a espécie mais afetada negativamente pela fumigação. A fumigação diminuiu o ciclo vegetativo das espécies *Bidens pilosa*, *Eleusine indica* e *Cenchrus echinatus*. O acúmulo de fósforo foi 20 e 30% menor em plantas de *B. pilosa* e *C. bonariensis*, respectivamente, quando cultivadas em solo fumigado. As culturas de feijão e milho foram menos afetadas pela esterilização do solo, em relação às plantas daninhas. Quanto à colonização micorrízica, observou-se que todas as plantas avaliadas apresentaram estruturas típicas de micorrizas arbusculares, destacando-se a ocorrência em um exemplar da família brassicaceae. Na maioria das espécies, foi observada a ocorrência de arbúsculos e enovelados de hifas nas células corticais, sendo este último mais comum entre as gramíneas. Fungos endofíticos do tipo

dark septat mycelium foram visualizados no sistema radicular de grande parte das famílias estudadas. As plantas daninhas *Amaranthus retroflexus*, *Bidens pilosa* e *Leonotis nepetaefolia* apresentaram elevados valores de solubilização relativa de fosfato, caracterizando a população microbiana, associada à rizosfera, como eficiente na solubilização de fosfato inorgânico.

ABSTRACT

SANTOS, Edson Aparecido. M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009. **Soil Microorganisms on Integrated Weed Manegement** Adviser: Lino Roberto Ferreira. CoAdvisers: Mauricio Dutra Costa e Antonio Alberto da Silva.

In order to evaluate aspects of the relation plants-microorganisms on integrated weed management, three experiments were carried out. In experiment 1, plants of *Stizolobium aterrimum* were cultivated in soil contaminated with trifloxysulfuron-sodium to evaluate the decontamination capacity of that contaminated soil. Rhizospheric soil samples collected each 15 days were used to value soil respiration and microbial biomass carbon. Sorghum was planted to indicate the presence of herbicide residue, beyond the analyses by high performance liquid chromatography. In experiment 2, development and accumulation of nutrients were evaluated in eight weed species and in bean and maize crops, while developing in soil fumigated with methyl bromide. In experiment 3, arbuscular mycorrhizal fungi occurrence was verified in 36 weed, and also the potential of inorganic phosphate solubilization by microbiota in some of these weeds. In experiment 1 it was observed that *S. aterrimum* rhizospheric microbiota is sensitive to trifloxysulfuron-sodium, becoming a microbiological indicator of problems caused by this herbicide on environment. *S. aterrimum* provide trifloxysulfuron-sodium residue decrease to a non toxic level on soil, after only 45 days of development. Gramineae showed higher dry matter production in relation to dicotyledons when cultivated in fumigated soil. Soil fumigation provided a decrease on vegetative cycle of *Bidens pilosa*, *Eleusine indica* and *Cenchrus echinatus*, but the most negatively affected specie was *Conyza bonariensis*. P accumulation was 20 and 30% smaller, respectively, in *Bidens pilosa* and *Conyza bonariensis*. Compared to weed, bean and maize crops were less affected by soil sterilization. All evaluated plants showed typical structures of arbuscular mycorrhiza, high lightening it in a sample from brassicaceae family. Most of the species showed both the two arbuscular morphological types and ball hyphae inside cells, being the last one more common among gramineaes. Dark septate endophytic fungi were viewed at radicular system, in most of the families. High values of relative phosphate solubilization were for *Amaranthus retroflexus*, *Bidens pilosa* and *Leonotis nepetaefolia,* characterizing the microbial population, associated to the rhizosphere, as efficient on inorganic phosphate solubilization.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil se destaca mundialmente na produção de alimentos, respondendo por mais de 4% do mercado mundial do agronegócio, ocupando uma área agrícola correspondente a 60 milhões de hectares (IBGE, 2008). A liderança no setor, com destaque para várias atividades como soja, cana-de-açúcar, citrus, carnes e café, faz do país candidato a maior fornecedor de alimentos para o mundo na segunda quinzena deste século (FAO, 2002).

A eficiência na produção e o aumento de produtividade das culturas muitas vezes estão associados a um uso intensivo de fertilizantes e agrotóxicos. Segundo Ferreira e Gonçalves (2007) em 1950 o consumo de fertilizantes no Brasil era de 224 mil toneladas, havendo uma crescente utilização de mais de 10.000%, sendo este valor elevado a 22.767 milhões de toneladas em 2005. A utilização de agrotóxicos no Brasil já é a maior do mundo (AGED, 2009), segundo a agência, os agricultores brasileiros compraram cerca de sete milhões de dólares em agrotóxicos no ano de 2008. Destacam-se os herbicidas, que correspondem por aproximadamente 60% do volume total destes produtos (SINDAG, 2008).

Nesse sentido, ao longo dos anos, vários produtos com características que prejudicassem menos o meio ambiente foram desenvolvidos, assim como houve uma utilização de doses menores e práticas de controle integradas. Sistemas de manejo foram introduzidos, tais como o plantio direto que se mostra como um sistema conservacionista apresentando inúmeras vantagens ambientais (Camara & Klein, 2005). Outra prática agrícola de caráter conservacionista é a integração entre sistemas: a integração lavoura/pecuária mostra-se como alternativa promissora para sistemas de produção menos intensivo no uso de insumos, sendo assim sustentável tanto econômica como ecologicamente (Lopes et al., 2008). Percebe-se, portanto, considerável preocupação no estudo das interações agroecológicas, buscando-se condições que favorecem o pleno desenvolvimento da cultura evitando-se ao máximo os impactos ambientais negativos.

Os vários tipos de interação entre plantas e os microrganismos podem favorecer, prejudicar ou não interferir no desenvolvimento da espécie vegetal. Torsvik et al., (2002) destacam que apesar da sabida diversidade e distribuição, há uma carência de estudos sobre os microrganismos do solo e suas relações com o ambiente. Apesar disso, sabe-se que atuam de forma fundamental na coordenação dos ciclos biogeoquímicos e equilíbrio dos ecossistemas. Os estudos que enfocam a relação plantas microrganismos são importantes, pois se observa um grande potencial biotecnológico (Goi & Souza, 2006), destacando-se a utilização como

inoculantes e na biorremedição de ambientes. A fitorremediação consiste na utilização de plantas e sua microbiota associada na descontaminação de solo e água. Explora a habilidade de algumas espécies vegetais bem como a tolerância das mesmas aos contaminantes (Wilson et al., 2000). Esta técnica apresenta-se como alternativa agronômica para sistemas de cultivo que necessitam remover herbicidas de alta persistência no solo.

Microrganismos do solo associam-se a plantas de interesse econômico destacando-se outras vantagens à produção: a simbiose de plantas como soja, feijão, cana-de-açúcar dentre outras, com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, conferindo aporte de N ao solo e otimizando o manejo de adubação nas lavouras (Melloni et al, 2006). Da mesma forma, um vasto número de espécies vegetais associa-se a fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), que conferem uma série de vantagens às plantas e ao agrossistema como um todo. A diversidade dos FMAs está intimamente ligada à produtividade e estabilidade das comunidades vegetais (Berbara et al, 2006) por somarem para as plantas, aporte na absorção de nutrientes e água e proteção contra patógenos (Smith & Read, 1997). Estes fungos têm papel importante no seqüestro de carbono atmosférico por acumularem este elemento na biomassa e em solos (Olsson & Wilhelmsson, 2000; Rillig et al., 2001), além disso, os FMAs favorecem a formação e estabilidade de agregados do solo por ação física do micélio fúngico e pela produção de glomalina, glicoproteína com ação estabilizante nos agregados do solo (Rillig & Mummey, 2006). Outro grupo de microrganismos associados de suma importância para a agricultura são os solubilizadores de fosfato inorgânico: um grande número de fungos e bactérias possui a capacidade de solubilizar fósforo no solo disponibilizando este nutriente para as plantas, especialmente pela produção de ácidos orgânicos (Whitelaw, 2000).

Existe uma gama de microrganismos no solo associados a plantas e influenciados por elas por meio das raízes, na interface solo raiz, este ambiente de relação é conhecido como rizosfera, onde ocorrem trocas de componentes, existem pontos específicos de penetração e exposição de substâncias químicas tornando a relação planta/microrganismo muitas vezes específica (Aquino & Assis, 2005; Moreira & Siqueira, 2006), assim, vale também considerar a capacidade de uma espécie vegetal em influenciar determinada comunidade microbiana. Neste ponto ressaltamos as plantas que ocorrem em um ambiente agrícola quando, a princípio, não desejadas, chamadas de plantas daninhas. Estas plantas existem em um grande número e possuem grande capacidade adaptativa e competitiva (Silva & Silva, 2007). Competem com as culturas por água, luz e nutrientes,

porém, estudos de competição e principalmente fatores competitivos devem ser considerados quando se objetiva um manejo integrado da lavoura (Merotto, 2001).

Parcela significativa da competição entre plantas ocorre abaixo da superfície do solo, onde as rotas de ativação da expressão de genes em resposta à competição por água e nutrientes ainda não são completamente elucidadas e onde as raízes exercem papel fundamental no processo competitivo (Rizzardi, et. al., 2001). Neste sistema, o melhoramento genético pelo qual as plantas cultivadas foram submetidas pode ter promovido menor capacidade associativa com as diferentes populações de microrganismos edáficos. Neste sentido, a existência de uma associação com microrganismos do solo pode ser decisiva diante de uma competição. No caso da simbiose mutualística, a planta mais eficiente na busca pela associação pode ser beneficiada. Ainda, considerando a capacidade agressiva que algumas plantas daninhas apresentam em condições de baixa disponibilidade dos fatores para crescimento, a eficiência em formar associações com microrganismos do solo pode responder pela maior viabilidade que tais espécies apresentam quando em competição com as culturas.

Diante do exposto, objetivou-se definir relações de plantas com microrganismos do solo visando um melhor entendimento ecológico e busca por um correto manejo integrado de plantas daninhas. Desenvolvendo-se para isso três trabalhos: no primeiro objetivou-se determinar a atividade microbiana rizosférica durante processo de remedição de solo contaminado por herbicida, avaliando-se também o tempo necessário para descontaminação do solo. No segundo trabalho, avaliou-se o crescimento e desenvolvimento e acúmulo de nutrientes por plantas daninhas em função da fumigação do solo com brometo de metila. Em um terceiro trabalho, buscou-se relatar fungos micorrízicos arbusculares em plantas daninhas, bem como determinar a capacidade da microbiota, associada a estas plantas, em solubilizar fosfato inorgânico.

1.1 - LITERATURA CITADA

AGED – Agencia Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão. Disponível em: http://www.aged.ma.gov.br/2009/1/21/Pagina245.htm. Acesso em 04/12/2008

AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L., (Eds.). **Processos biológicos do sistema solo-planta**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 181-200, 2005.

BERBARA, R. L. L., SOUZA, F. A. & FONSECA, H. M. A. C. Fungos Micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. *In* **Nutrição Mineral de Plantas** (FERNANDES, M. S. ed.), p. 53-88, 2006. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, MG, Brasil.

CAMARA, R. K. & KLEIN, V. A. Propriedades físico-hídricas do solo sob plantio direto escarificado e rendimento da soja. **Ciencia Rural.** v. 35, n. 4, p. 813-819, 2005.

FAO – World Agriculture 2030: Global food production will exceed population growth – hhtp://<www.fao.org/english/newsroom/news/2002/7828>. Acesso em 12/07/2008.

FERREIRA C. R. R. P. T. & GONÇALVES, J. S. Evolução e sazonalidade do consumo de fertilizantes no Brasil e nas unidades da federação no período 1987-2005. **Informações Econômicas**, SP, v.37, n.11, nov. 2007.

GOI, S. R. & SOUZA, F. A. Diversity of soil microorganisms. **Floresta e Ambiente**. V.13, n.2, p. 46 - 65, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores Agropecuários. 2008. Em: <http://www.ibge.org.br>. Acesso em 12/09/2008.

LOPES, M. L. T. et al . Sistema de integração lavoura-pecuária: desempenho e qualidade da carcaça de novilhos superprecoces terminados em pastagem de aveia e azevém manejada sob diferentes alturas. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, 2008.

MARSCHNER H., **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press, San Diego, 1995.

MELLONI, R.; et al. Eficiência e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas que nodulam caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em solos de mineração de bauxita em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.235-246, 2006.

MEROTTO Jr., A. et al. **Manejo integrado de plantas daninhas**. In: MATZENAUER, R. et al., (Org.). Indicações técnicas para a cultura do milho no RS. Porto Alegre: Fepagro, 2001, v1. p. 92-101.

MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.

OLSSON, P. A. & WILHELMSSON, P. The growth of external AM fungal mycelium in sand dunes and in experimental systems. **Plant & Soil** 226, 161-169. 2000.

RILLIG, M. C. & MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. **New Phytologist.** 171, 41-53. 2006.

RILLIG, M. C. et al. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. **Plant & Soil** 233, 167-177. 2001.

RIZZARDI, M. A. et al. Competition between weeds and crops by soil resources. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 4, 2001.

SILVA, A. A.; SILVA, J.F. (Editores). **Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas**. Viçosa, MG. Editora UFV. 2007. 367p.

SINDAG. Sindicato Nacional de Produtos para Defesa Agrícola. http://www.sindag.com.br/. Acesso em 02/10/2008.

SMITH, S. E. & READ, D. J. "**Mycorrhizal Symbiosis**," 2nd/Ed. Academic Press, London, UK. 1997.

TORSVIK V.; OVREAS L; THINGSTAD T. F. Prokaryotic diversity-magnitude, dynamics, and controlling factors. **Science,** v**.** 10, n. 296; p. 1064-6, 2002.

WHITELAW, M. A. Growth promotion of plant inoculated with phosphate-solubilizing fungi. **Advances in Agronomy**, New York, v. 69, p. 99-151, 2000.

WILSON, P.C.; WHITWELL, T.; KLAINE, S.J. Metalaxyl and simazine toxicity to and uptake by *Typha latifolia*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. V. 39, p.282-288, 2000.

2. ATIVIDADE RIZOSFÉRICA DURANTE PROCESSO DE REMEDIAÇÃO POR *Stizolobium aterrimum* DE SOLO TRATADO COM HERBICIDA

2.1 - RESUMO

Neste trabalho, objetivou-se avaliar a atividade da microbiota associada à rizosfera de *Stizolobium aterrimum*, durante processo de fitorremediação de solo contaminado com o herbicida trifloxysulfuron-sodium. Em vasos com capacidade para seis litros, após aplicação ou não de 7,5 g ha^{-1} do herbicida trifloxysulfuron-sodium, cultivou-se a espécie vegetal *S. aterrimum*. A cada 15 dias após a semeadura (DAS) procedeu-se à coleta de solo rizosférico. Em cada coleta estimou-se a respiração da microbiota do solo (quantidade de CO_2 evoluído), o carbono da biomassa microbiana (CBM) e o quociente metabólico (qCO_2). Para determinação do resíduo do herbicida nas amostras de solo após a remediação, cultivou-se sorgo como planta indicadora, além da análise por cromatografia líquida de alta eficiência. Observou-se que a microbiota associada à rizosfera de *S. aterrimum* é sensível ao trifloxysulfuron-sodium, podendo constituir-se em indicador microbiológico de distúrbios causados por esse herbicida no ambiente. Quanto ao tempo para remediação, 45 dias de desenvolvimento são suficientes para que *S. aterrimum* promova a diminuição do resíduo de trifloxysulfuron-sodium a um nível satisfatório no solo.

Palavras-chave: fitorremediação; descontaminação ambiental; adubo-verde

2.2 - ABSTRACT

This study aimed to evaluate microbial activity associated to *Stizolobium aterrimum* rhizosphere, while phytoremediation process of soil contaminated trifloxysulfuron-sodium. *S. aterrimum* was cultivated in pots with capacity for 6L, after applying or not 7.5 g ha^{-1} of trifloxysulfuron-sodium, and at each 15 days after sowing (DAS), rhizospheric soil was collected. In each collection soil microbiota respiration (CO_2 evoluted), microbial biomass carbon (MBC) and metabolic quotient (qCO_2) were valued. Sorghum was planted to indicate the presence of herbicide residue after remediation, beyond the analyses by high performance liquid chromatography. Microbiota associated to *S. aterrimum* rhizosphere is sensitive to trifloxysulfuron-sodium, becoming a microbiological indicator of problems caused by this herbicide on environment. *S. aterrimum* provide trifloxysulfuron-sodium residue decrease to a satisfactory level on soil, after only 45 days of development.

Key words: phytoremediation; sustainable agriculture; environmental decontamination; green manure

2.3 - INTRODUÇÃO

A fitorremediação é o uso de plantas e da microbiota associada na descontaminação de solo e água, explorando a habilidade de algumas espécies vegetais de removerem/extraírem e, ou mineralizarem xenobióticos, bem como a tolerância dessas plantas aos contaminantes (Wilson et al., 2000). Esta técnica apresenta-se como alternativa agronômica para sistemas de cultivo que necessitam remover herbicidas de alta persistência no solo, como o trifloxysulfuron-sodium, que é utilizado na cultura do algodão em pós-emergência inicial ou em mistura ao ametryn na cana-de-açúcar (Rodrigues & Almeida, 2005), apresentando problemas de carryover em culturas sensíveis plantadas até oito meses após aplicação, porém passível de remediação pela espécie vegetal mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*) (Procópio et al., 2005).

Pode-se afirmar que a fitorremediação é uma técnica aceleradora da retirada de compostos tóxicos do solo, no caso herbicidas, promovendo sua descontaminação (Cunningham et al., 1996). Baseia-se na seletividade que algumas espécies exibem a um composto específico e, ou, a um mecanismo de ação. A tolerância pode ser resultante de processos como a translocação diferencial de compostos orgânicos para outros tecidos da planta com subsequente volatilização, degradação parcial ou completa transformação em compostos menos tóxicos, combinados e, ou, ligados nos tecidos das plantas (Accioly & Siqueira 2000). Além disso, existe a possibilidade de fitoestimulação, na qual, em razão da liberação de exsudatos radiculares, há o estímulo à atividade microbiana, que atua degradando o composto no solo, o que caracteriza, em algumas plantas, a aptidão rizosférica para a biorremediação de compostos tóxicos (Cunningham et al., 1996; Accioly & Siqueira 2000; Scramin et al., 2001).

Em vários trabalhos é relatada a contribuição das plantas estimulando, por meio do efeito rizosférico, a mineralização de alguns herbicidas, principalmente atrazine e metolachlor (Anderson et al., 1994; Anderson & Coats 1995; Perkovich et al., 1996; Burken & Schnoor 1996).

Pela avaliação da atividade microbiana na rizosfera pode-se inferir sobre o papel da microbiota, quando estimulada pelas raízes das plantas, na remediação dos herbicidas. Essa atividade pode ser estimada indiretamente por variáveis como a respiração basal do solo

rizosférico (Paul et al., 1999), a biomassa microbiana (Jenkinson & Ladd 1981; Stenberg, 1999) o quociente metabólico (qCO_2) (Anderson & Domsch, 1985), porcentagem de colonização das raízes por fungos micorrízicos, número e atividade de nódulos na fixação de N_2, no caso de leguminosas, entre outros.

Vários fatores afetam os microrganismos associados à rizosfera, logo podem afetar o processo de fitorremediação, dentre tais fatores, pode-se citar: características de solo como concentração de argila, pH, teor de matéria orgânica, disponibilidade de elementos, aeração (Tauk, 1990)**;** características das plantas como espécie, vigor, profundidade do sistema radicular, número e tamanho de raízes, quantidade de exsudados, materiais solúveis, mucigel, mucilagem e células mortas produzidas (Moreira & Siqueira, 2002). A exsudação de compostos orgânicos varia muito em função da espécie, segundo Newman & Watson, (1977) plantas de alfafa e de pinus exsudam maior volume de carboidratos em relação a plantas de cevada e milho. E plantas de milho exsudam maior volume de aminoácidos em relação a plantas de *Robinia pseudoacacia*.

Outro fator importante na relação planta microrganismo de solo é a idade da planta. Segundo Rovira (1965), em fase de florescimento, há maior liberação de exsudados radiculares, contribuindo para maior número de microrganismos associados à rizosfera. A deposição de materiais orgânicos (açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, carboidratos) pelas plantas, também é afetada pela idade da mesma (Hale et al., 1971; Balarsubramanian & Rangaswami, 1969).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar a atividade microbiana rizosférica de *S. aterrimum* durante processo de fitorremediação de solo contaminado com o herbicida trifloxysulfuron-sodium, identificando estádios onde a descontaminação é mais eficiente.

2.4 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e laboratório pertencentes ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa.

Vasos com capacidade para 6,0 litros foram preenchidos com solo previamente classificado física e quimicamente (Tabela 1) e adubado com 100 kg ha^{-1} de adubo da formulação 8-28-16. Em seguida o solo foi umedecido até 70% da capacidade de campo para a aplicação do herbicida trifloxysulfuron-sodium na dose de 7,5 g ha^{-1}. Para isso, utilizou-se

pulverizador pressurizado com CO_2, com volume de calda de 200 L ha^{-1}. Após 24 horas da aplicação, realizou-se a semeadura da mucuna-preta (*Stizolobium aterrimum*), depositando-se três sementes por vaso, deixando-se, após emergência e estabelecimento das plântulas, uma planta por vaso.

Os tratamentos foram compostos pela combinação de quatro sistemas de cultivo (solo contaminado com herbicida e cultivado com a mucuna-preta; solo sem herbicida e cultivado com a mucuna-preta; solo contaminado com o herbicida sem cultivo e, solo sem herbicida e sem cultivo) e cinco épocas de coleta (aos 15, 30, 45, 60 e 75 dias após a aplicação do herbicida – DAA), constituindo um fatorial 4 x 5 com três repetições, obtendo-se portanto 60 unidades experimentais.

Para cada época de avaliação foi retirada uma amostra do solo de 500 gramas, rizosférico, quando cultivado com a mucuna, e não rizosférico (não cultivado). As plantas eram retiradas do solo e coletavam-se as amostras do solo aderido às raízes das mesmas. Após serem passadas por peneira de dois mesh, secas ao ar e determinada a umidade, estas amostras eram divididas em subamostras, e, para avaliação da respiração do solo e biomassa microbiana, amostras de 100 g de solo seco eram adicionadas em frascos Erlenmayer, sendo o teor de água nas amostras mantido em 70% da capacidade de campo.

Nas épocas pré-estabelecidas, a respiração da microbiota do solo, nos diferentes tratamentos foi estimada por meio da quantidade de CO_2 evoluído, o qual foi capturado em frascos contendo 100 mL de NaOH (0,25 mol L^{-1}), em sistema contínuo de fluxo de ar (isento de CO_2 e umidade), procedendo-se então à titulação indireta do hidróxido de sódio com HCl (0,25 mol L^{-1}), onde o excesso de NaOH que não reagiu com o CO_2 evoluído foi quantificado, permitindo assim a quantificação do CO_2 evoluído das amostras incubadas.

Também em cada avaliação, foi determinado o carbono da biomassa microbiana (CBM) pelo método descrito por Vance et al., (1987), utilizando-se, em lugar do clorofórmio (fumigação), forno de microondas (irradiação) (Islam & Weil, 1998). Diante de valores de CO_2 e CBM, calculou-se o quociente metabólico (qCO_2), resultado da divisão entre o primeiro e o segundo.

Para verificação do residual herbicida nas amostras de solo, em subamostras de 100 g de solo cultivou-se sorgo como espécie indicadora em bioensaio (Vivian et al., 2007). As subamostras eram acondicionadas em frascos de 0,15 L, onde se semearam cinco sementes de

sorgo, deixando-se três plântulas por vaso, sendo um vaso para cada unidade onde se cultivou a mucuna previamente. As plantas de sorgo desenvolveram-se por 20 dias, quando se realizaram a avaliação da intoxicação visual, altura de plantas e massa seca da parte aérea. Procedeu-se também à análise cromatográfica, submetendo-se subamostras do solo à agitação rotacional, centrifugação e coleta do sobrenadante filtrado. Para quantificação da concentração do herbicida em solução uma alíquota previamente filtrada foi analisada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em aparelho Shimandzu, equipado com detector UV a 245 nm e coluna Varian de fase reversa (C-18). A fase móvel foi composta por acetonitrila, água e ácido fosfórico, na respectiva proporção 48:52:1 (v:v:v), com fluxo de 1 mL min^{-1}. Utilizou-se o método do padrão externo em solução de $CaCl_2$ 0,01mol L^{-1}.

Após a coleta e tabulação dos dados, os mesmos foram submetidos à análise de variância. A partir das médias significativas, foram ajustadas curvas de regressão, para o herbicida relacionando épocas de avaliação e evolução de CO_2 para cada tratamento dado ao solo, sendo os coeficientes testados pelo teste t a 5% de significância. Para as demais avaliações, realizou-se comparação de médias pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro.

2.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as épocas de avaliação, observou-se desenvolvimento normal da mucuna-preta, independentemente da aplicação do herbicida, confirmando a tolerância dessa espécie ao produto, conforme já descrito em outros trabalhos (Santos et al., 2005; Procópio et al., 2005).

Observou-se comportamento linear para o acúmulo de CO_2 ao longo do período de incubação das amostras de solo sob os diferentes tratamentos. O maior acúmulo de CO_2 foi observado para o solo cultivado com mucuna-preta quando não recebeu a aplicação do herbicida. Menor atividade metabólica, evidenciada pelo desprendimento de CO_2, foi verificada no solo não cultivado e contaminado com trifloxysulfuron-sodium (Figura 1).

A respiração total da microbiota da amostra de solo não contaminado e não cultivado foi semelhante aos valores observados para as amostras provenientes da rizosfera de mucuna em solo previamente contaminado pelo herbicida (Figura 1). É provável que a maior atividade observada no solo contaminado com herbicida e posteriormente cultivado com a mucuna-preta se deve à maior concentração de microrganismos e abundância de exsudados provenientes do desenvolvimento da espécie vegetal. Pires et al., (2005) observaram que o solo rizosférico

tratado com tebuthiuron apresentou maior desprendimento de CO_2 comparado ao solo não vegetado, sendo esse fato atribuído à fitoestimulação da microbiota associada à rizosfera.

Considerando a complexidade do sistema radical em solo, quanto à possibilidade de interações com microrganismos e a variedade de compostos presentes, várias são as possibilidade de quebra de compostos xenobióticos por meio da rizodegradação, mecanismo que contribui de maneira integrada à fitoestimulação (Santos et al., 2007). Nesse sentido, a variedade de compostos, bem como o estádio fenológico e a idade da planta podem garantir maior sucesso no processo de descontaminação. Hale et al., (1971) e Balarsubramanian & Rangaswami (1969) mostraram que a exsudação de N-amina em raízes de sorgo decresce com a idade da planta, observando também maior exsudação de açúcares. Para a espécie vegetal *Crotalaria juncea* estes mesmos autores encontraram valores de exsudação de N-amina maiores aos 30 dias após a emergência das plantas, em relação a 15 e 45 dias.

A avaliação do total de carbono proveniente da biomassa microbiana das amostras de solo evidenciou maior valor para o solo cultivado com a mucuna-preta, independentemente da aplicação do herbicida, contudo sem diferença significativa para o solo sem cultivo prévio e sem herbicida (Tabela 2). O menor valor de CBM (136,25 $\mu g\ g^{-1}$) foi observado para o solo tratado com o herbicida e não cultivado previamente com mucuna-preta (Tabela 2). Acredita-se que a adição do herbicida em solo não vegetado promove efeito negativo à biomassa microbiana não beneficiada pelo efeito rizosférico. Alguns autores relataram o efeito negativo de herbicidas a microrganismos do solo (Edwards 1989, Wardle 1994, Perschbacher et al. 1997, Kinney et al. 2005) e o benefício da vegetação na atividade microbiana (Santos et al. 2006, Santos et al. 2007).

Uma estimativa mais representativa dos efeitos de qualquer estresse sobre a microbiota do solo pode ser obtida por meio da avaliação do quociente metabólico (qCO_2), o qual relaciona o CO_2 acumulado e o total do CBM (Anderson & Domsch, 1985). Esse índice estabelece que, à medida que a biomassa microbiana se torna mais eficiente em utilizar os recursos em seu meio, menos C é perdido como CO_2 pela respiração, podendo ele ser reincorporado aos tecidos microbianos. Dessa forma, menor qCO_2 significa maior estabilidade da BM e, consequentemente, da matéria orgânica no solo. O valor de qCO_2 foi maior nas amostras provenientes do solo tratado com o herbicida e não cultivado com a mucuna-preta (Tabela 2). Dessa maneira, pode-se inferir para esse tratamento, menor eficiência na utilização de C no

metabolismo microbiano. Para os demais tratamentos, não se observaram diferenças no valor de qCO_2.

A partir do bioensaio foi possível comprovar a eficiência da mucuna-preta na descontaminação do solo com resíduo do trifloxysulfuron-sodium, observando-se intoxicação nas plantas de sorgo somente quando cultivadas em solo contaminado pelo herbicida e não cultivado pela mucuna-preta (Tabela 3). À exceção da primeira época de coleta de solo (30 DAS) para intoxicação visual, houve desenvolvimento do sorgo semelhante á testemunha em todas as parcelas previamente cultivadas pela mucuna-preta.

Para fins de adubação verde, durante o período vegetativo, a mucuna-preta desenvolve-se por aproximadamente 80 dias, sendo posteriormente cortada e incorporada ao solo, ou ainda deixada na superfície. Considerando os resultados obtidos, o período vegetativo compreendido até aos 45 dias de desenvolvimento da mucuna-preta é suficiente para descontaminação de solos com residual de trifloxysulfuron-sodium na dose comercialmente recomendada de 7,5 g ha^{-1}. Favero et al., (2001) em trabalho visando avaliar a capacidade de cobertura do solo por espécies de adubação verde, mostraram que logo aos 28 dias após a emergência, plantas de mucuna-preta conferiram a maior cobertura do solo. Neste sentido, Procópio et al., (2005) relatam que apenas 25 plantas m^{-2} são suficientes para descontaminar solo com residual de trifloxysulfuron-sodium para cultivo de feijão.

O bioensaio foi fundamental para avaliação dos resíduos do herbicida em estudo. A análise das amostras em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) impossibilitou a determinação do nível de resíduos do herbicida presente no solo. A dose do trifloxysulfuron-sodium comercialmente recomendada (7,5 g ha^{-1}) fica abaixo do limite de quantificação (LQ) do método CLAE. Em estudos realizados por Vivian (2007), a extração e avaliação dos resíduos de trifloxysulfuron-sodium, em diferentes solos, permitiram quantificação segura desse herbicida para valores de LQ superiores a 0,08 μg kg^{-1} de solo. Neste trabalho, considerando o volume de solo utilizado, a concentração do trifloxysulfuron-sodium foi de, aproximadamente, 0,004 μg kg^{-1} de solo, portanto, 20 vezes abaixo do LQ estabelecido por aquele autor. Apesar da concentração baixa no solo, este nível de contaminação é suficiente, em nível de campo, para intoxicação de espécies sensíveis cultivadas.

Conclui-se que a microbiota associada à rizosfera da mucuna-preta mostrou-se sensível ao herbicida trifloxysulfuron-sodium, podendo constituir-se em indicador microbiológico de

distúrbios causados por esse herbicida no ambiente. Após 45 dias de desenvolvimento da mucuna-preta, o resíduo do herbicida trifloxysulfuron-sodium é reduzido no solo, permitindo o desenvolvimento normal da planta indicadora.

2.6 - LITERATURA CITADA

ACCIOLY, A. M. A. & SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V.; V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R., eds. **Tópicos em ciência do solo.** Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, v.1, p. 299-352, 2000.

ANDERSON, T. A. & COATS, J. R. Screening rhizosphere soil samples for the ability to mineralize elevated concentrations of atrazine and metolachlor. **Journal of Environment Science and Health**, Part B, Ames, v. 30, n.4, p. 473-484, 1995.

ANDERSON, T. A.; KRUGER, E. L.; COATS, J. R. Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant**. Chemosphere**, Oxford v.28, n.8 p.1551-1557. 1994.

ANDERSON, T. H. & DOMSCH, K. H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. **Biology and Fertility of Soils**, v. 1, n. 2 p. 81 - 89, 1985.

BALASUBRAMANIAN, A.; RANGASWAMI, G. Studies on the influence of foliar nutrient sprays on the root exudation pattern in four crop plants. **Plant Soil**., v. 30, n. 8, p. 210 - 220, 1969.

BURKEN, J. G. & SCHNOOR, J. L. Phytoremediation: plant uptake of atrazine and role of root exudates. **Journal Environmental Engineering.,** London, v. 122, n. 11, p. 958-963, 1996.

CUNNINGHAM, S. D. et al., Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances in Agronomy**, v. 56, p. 55-114, 1996.

EDWARDS, C. A. Impact of herbicides on soils ecosystems. Critical Review. **Plant Science,** v. 08, n. 3. p. 221 - 257, 1989.

FAVERO, C. et al., Modifications in the population of spontaneous plants in the presence of green manure. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 36, n. 11, 1355-1362, Nov, 2001.

HALE, M. G. et al., Factors affecting root exudation. **Advances in Agronomy**, v.24, n 7. p. 89-109, 1971.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils**, v.27, n. 4, p. 408-416, 1998.

JENKINSON, D. S. & LADD, J. N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Paul, E. A.; Ladd J.N (eds). **Soil biochemistry.** p.425-471, 1981.

KINNEY, C. A.; MANDERNACK, K. W.; MOSIER, A. R. Laboratory investigations into the effects of the pesticides mancozeb, chlorothalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilized soil. **Soil, Biology & Biochemistry.**v. 37, n. 5, p. 837-850, 2005.

MOREIRA, F. S. M. & SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Universidade Federal de Lavras, 626 p., 2002.

NEWMAN, E. I. & WATSON, A. Microbial abundance in the rhizosphere: a computer model. **Plant and Soil**, v.48, n. 1, p.17 - 56, 1977.

PAUL, N. B.; RAO, W. V. B. S. Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes. **Plant and soil**, v.35, n.1, p.127-132, 1999.

PERKOVICH, B. S. et al., Enhanced mineralization of [14C] atrazine in K. scoparia rhizosferic soil from a pesticide-contaminated site. **Pesticide Science**, Kyoto, v. 46, n. 4. p. 391-396, 1996.

PERSCHBACHER, P. W. et al., Evaluation of effects of common aerially - applied soybean herbicides and propanyl on the plankton communities of aquaculture ponds. **Aquaculture,** v. 157, n. 14, p. 117-122, 1997.

PIRES, F. R. et al., Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, n. 4, p.627-634, 2005.

PROCÓPIO, S. O. et al., Phytoremediation of soil contaminated with trifloxysulfuron-sodium by stizolobium aterrimum. **Planta daninha**, v. 23, n. 4, p. 719-724, 2005.

RODRIGUES, B. N. & ALMEIDA, F. S. de. **Guia de herbicidas**. 5.ed. Londrina, PR: Grafmarke, 591p. 2005.

ROVIRA, A. D. Plant root exudates and their influence upon soil microrganisms. In: BAKER, K. F. & SNYDER, W. C. (eds.). **Ecology of soil-borne plant pathogens-prelude to biological control.** University of California Press, p.170-185. 1965.

SANTOS J. B. **Atividade microbiana após aplicação de herbicidas utilizados no cultivo do feijoeiro.** 80 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

SANTOS, E. A. et al., Fitoestimulação por *Stizolobium aterrimum* como processo de remediação de solo contaminado com trifloxysulfuron-sodium. **Planta daninha,** v. 25, n. 2, p. 259-265, 2007.

SANTOS, J. B. et al. Action of two herbicides on the microbial activity of soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) in conventional-till and no-till systems. **Weed Research**, v.46, n. 4, p. 284-289, 2006.

SCRAMIN, S. et al., Utilização de plantas na remediação de solos contaminados por herbicidas – levantamento da flora existente em áreas de cultivo de cana-de-açúcar. In: MELO, I. S. et al., **Biodegradação**. EMBRAPA Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, p. 369-371, 2001.

STENBERG, B. Monitoring soil quality of arable land: microbiological indicators. **Soil and Plant Science**, v.49, n.1 p.1-24, 1999.

TAUK, S. M. Biodegradação de resíduos orgânicos no solo. **Revista Brasileira de Geociência**. v. 20, n. 1-4, p. 299-301, 1990.

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

VIVIAN, R. et al., Persistência e lixiviação de ametryn e trifloxysulfuron-sodium em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta daninha,** v. 25, n.1, p. 111-124, 2007.

WARDLE, D.A. Metodologia para quantificação da biomassa microbiana do solo. In: HUNGRIA, M.; ARAÚJO, R.S. (Eds.) **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 542 p., 1994.

WILSON, P.C., WHITWELL, T.; KLAINE, S.J. Metalaxyl and simazine toxicity to and uptake by Typha latifolia. Achiv**. Environmental contamination and toxicology**. Florida, v. 39, n. 3, p. 282-288, Sep. 2000.

Tabela 1 – Composição físico-química do solo Argissolo Vermelho-Amarelo utilizado no experimento. Viçosa-MG, 2009.

Análise granulométrica (dag kg^{-1})				
Argila	Silte	Areia fina	Areia grossa	Classificação textural
39	11	17	33	Argilo-arenosa

Análise Química										
pH	P	K^+	H + Al	Al^{3+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	CTC $_{total}$	v	m	MO
H_2O	mg dm^{-3}		$cmol_c$ dm^{-3}					%		dag kg^{-1}
5,0	0,6	18	5,94	1,1	0,1	0,0	6,09	2	88	2,18

Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da UFV, segundo método descrito pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa (1997).

Tabela 2 - Carbono da biomassa microbiana (CBM) e quociente metabólico (qCO_2), em amostras de solo provenientes ou não da rizosfera de mucuna-preta, após aplicação ou não de 7,5 g ha^{-1} de trifloxysulfuron-sodium, coletadas aos 45 dias após a semeadura. Viçosa-MG, 2009.

Característica	*Stizolobium aterrimum*		Sem cultivo prévio	
	Sem herbicida	Com herbicida	Sem herbicida	Com herbicida
CBM (μg g^{-1})	281,89 A	258,34 A	219,87 AB	136,25 B
qCO_2	0,031 A	0,030 A	0,034 AB	0,052 B

Médias seguidas por letras iguais, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

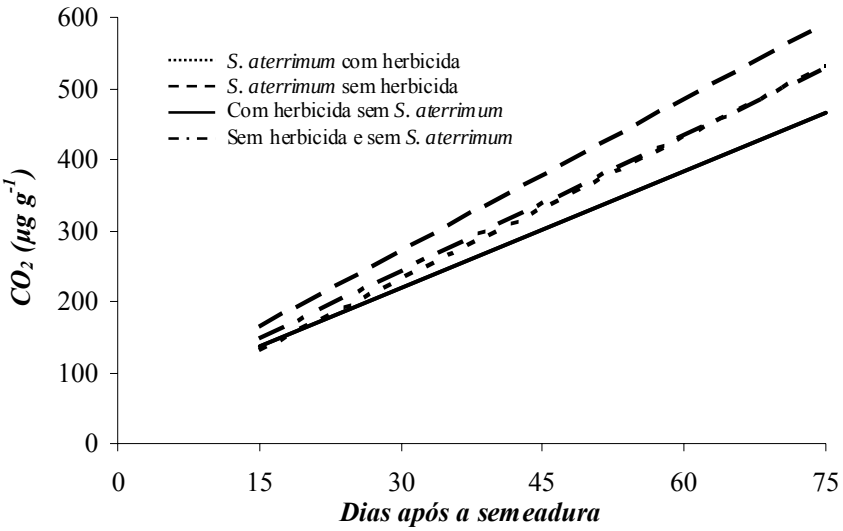

Figura 1 – Evolução do CO_2 acumulado, proveniente do solo contaminado ou não com o herbicida trifloxysulfuron-sodium (7,5 g ha^{-1}) e fitorremediado ou não por *Stizolobium aterrimum*. Com planta e com herbicida: $\hat{y} = 6,78X^* + 16,333$ e $R^2 = 0,99$; com planta e sem herbicida: $\hat{y} = 6,933X^* + 72,0$ e $R^2 = 0,99$; sem planta e com herbicida: $\hat{y} = 5,833X^* + 36,5$ e $R^2 = 0,99$ e; sem e sem herbicida: $\hat{y} = 6,66X^* + 35,0$ e $R^2 = 0,99$; */significativos pelo teste"t" a 5% de probabilidade. Viçosa-MG, 2009.

Tabela 3 - Sorgo cultivado em solo proveniente ou não da rizosfera de *Stizolobium aterrimum*, após tratamento ou não com o herbicida trifloxysulfuron-sodium (7,5 g ha^{-1}) e coletado em quatro épocas. Viçosa-MG, 2009.

DAS[1]	**Intoxicação visual (%)**			
	Stizolobium aterrimum		Sem cultivo prévio	
	Sem herbicida	Com herbicida	Sem herbicida	Com herbicida
30	0,0 C b	10,0 A a	0,0 C b	90 A a
45	0,0 B b	0,0 B b	0,0 B b	70 A b
60	0,0 B b	0,0 B b	0,0 B b	66 A b
75	0,0 B b	0,0 B b	0,0 B b	70 A b
DAS	**Altura (cm)**			
	Stizolobium aterrimum		Sem cultivo prévio	
	Sem herbicida	Com herbicida	Sem herbicida	Com herbicida
30	28,33 A a	22,67 B b	29,33 A a	12,33 C a
45	33,00 A a	28,00 A a	33,67 A a	13,33 B a
60	30,33 A a	29,67 A a	29,33 A a	12,87 B a
75	30,33 A a	28,33 A a	30,00 A a	13,67 B a
DAS	**MSPA (g)**			
	Stizolobium aterrimum		Sem cultivo prévio	
	Sem herbicida	Com herbicida	Sem herbicida	Com herbicida
30	0,91 A a	0,67 B b	0,96 A a	0,18 C b
45	0,98 A a	0,92 A a	0,89 A a	0,26 B a
60	0,96 A a	0,91 A a	0,92 A a	0,33 B a
75	1,00 A a	0,98 A a	0,97 A a	0,32 B a

[1]Dias após a semeadura de *S. aterrimum*

Médias seguidas por letras iguais, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, para cada característica, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. EFEITO DA FUMIGAÇÃO DO SOLO NO CRESCIMENTO E NUTRIÇÃO MINERAL DE ESPÉCIES DANINHAS E CULTURAS

3.1 - RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar o crescimento e o acúmulo de macro- e micronutrientes em oito espécies de plantas daninhas (*Ageratum conyzoides* L., *Bidens pilosa* L., *Cenchrus echinatus* L., *Conyza bonariensis* L., *Echinochloa crus-galli* L., *Eleusine indica* L., *Ipomoea grandifolia* L. e *Lolium multiflorum* L.) e nas culturas de feijão e milho, cultivadas em substrato fumigado composto por um Argissolo Vermelho-Amarelo. Para isso, o substrato foi acondicionado em caixas de amianto e tratado com brometo de metila (2,5 cm^3 L^{-1}/72 h), sendo em seguida, transferido para vasos com capacidade de 6,0 L, onde foram semeadas as espécies vegetais. As avaliações referentes à altura, área foliar, número de folhas, matéria seca da parte aérea e das raízes e teor relativo dos nutrientes K, P, S, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn e Cu, foram realizados por ocasião da colheita do experimento, aos 50 dias após emergência das plântulas. Durante a realização do experimento, avaliou-se também a duração do estádio de desenvolvimento das espécies até o florescimento. Observou-se efeito positivo maior da fumigação do substrato no crescimento, número de folhas, área foliar, altura de plantas e acúmulo de nutrientes nas plantas daninhas gramináceas, em relação às dicotiledôneas. *Conyza bonariensis* foi a mais afetada pela fumigação do solo, com a matéria seca, número de folhas, área foliar, altura e acúmulo de nutrientes em torno de 50 % menores em relação às plantas crescidas em solo normal. A fumigação do substrato influenciou também o ciclo vegetativo das plantas, sendo este menor em relação àquelas cultivadas em não-fumigado para as espécies *B. pilosa*, *E. indica* e *C. echinatus*. Observou-se, ainda, acúmulo de P 20 e 30% menor em plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza bonariensis*, respectivamente, quando cultivadas em solo esterilizado. As culturas de feijão e milho foram menos afetadas pela esterilização do solo em comparação às plantas daninhas.

Palavras-chave: rizosfera; fumigação de solo; microrganismos do solo.

3.2 - ABSTRACT

This experiment was carried out in order to evaluate growth and accumulation of macro and micro nutrients on *Ageratum conyzoides* L., *Bidens pilosa* L., *Cenchrus echinatus* L., *Conyza bonariensis* L., *Echinochloa crus-galli* L., *Eleusine indica* L., *Ipomoea grandifolia* L.

ande *Lolium multiflorum* L. and bean and maize crops. Soil fumigated, composed by red-yelow clay soil, was stored in containers and treated with methyl bromide (2.5 cm^3 L^{-1}/72 h), being later transferred to pots with capacity for 6L, where vegetal species were sowed. After 50 days of plantule emergence, height, foliar area, ground tissue dry matter, leave number, and relative content of K, P, S, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn and Cu were evaluated. Time spent from species development stage up to flowerage was also evaluated. Higher positive effect of soil fumigation on growth, leave number, foliar area, plant height and nutrients accumulation were observed in the gramineae, in relation to dicotyledons. *Conyza bonariensis* was the most affected in dry matter, leave number, foliar area, height and nutrient accumulation, around 50% smaller in relation to plants in normal soil. Vegetal cycle, to *B. pilosa*, *E. indica* and *C. echinatus,* was also influenced by soil fumigation, beyond being smaller in relation to plants in soil non fumigated. When cultivated in sterilized soil. P accumulation was 20 and 30% smaller, respectively, in *Bidens pilosa* and *Conyza bonariensis*. Compared to weed, bean and maize crops were less affected by soil sterilization.

Key words: rizosphere; soil fumigation; soil microorganisms.

3.3 - INTRODUÇÃO

Na agricultura atual, tem se observado maior preocupação com a sustentabilidade dos sistemas de produção, além de se demandar condições cada vez mais exigentes para o aumento da produtividade. Apesar de toda modernização, as pragas e doenças persistem nos campos de produção, destacando-se as plantas daninhas, espécies vegetais que interferem nas atividades antrópicas, impondo, de alguma forma, prejuízos.

Estas plantas possuem grande agressividade e rápido poder de adaptação, estabelecimento e perpetuação, existem mecanismos especiais conferindo às mesmas, maior capacidade de competição pela sobrevivência, como dormência, alelopatia e hábito trepador (Pitelli, 1987). Silva et al., (2007) destacam que algumas características das plantas daninhas fazem com que elas sejam mais eficientes no uso de fatores do ambiente e dominem as espécies cultivadas quando sem interferência antrópica. É relatada a elevada capacidade de produção de sementes ou outros dissemínulos, capacidade diferenciada de germinação, rápido desenvolvimento inicial, manutenção da viabilidade das sementes no solo por longo tempo e diversos mecanismos de dispersão. Assim, como comprovada a complexa relação entre

microrganismos do solo e espécies vegetais num dado ecossistema (Nusslein & Tiedje, 1999; Moreira & Siqueira, 2006; Aquino & Assis, 2005), espera-se que características de adaptabilidade de plantas daninhas, sejam influenciadas diretamente por microrganismos do solo.

Destacam-se os microrganismos do solo pela versatilidade adaptativa à mudança de fatores como pH, umidade, concentração de determinado elemento, temperatura, dentre outras características, sendo muitas vezes protegidos e estimulados pela comunidade vegetal presente (Aquino & Assis, 2005). Os microrganismos do solo podem apresentar mais de 10.000 espécies por grama de solo (Torsvik et al., 1990) e representar cerca de 85 % da biomassa e 90 % do fluxo de CO_2 entre os componentes bióticos responsáveis pela decomposição de serrapilheira (Paoletti & Bressan, 1996). Segundo Hsu & Barth (1979) e Arthur et al., (2000), ocorre exsudação constante e relativa de nutrientes da planta para o solo caracterizando o efeito rizosférico na interface solo-raiz, o que resulta na proliferação da comunidade microbiana naquela região. Desta forma, o número de microrganismos nos solos rizosféricos, região sobre influencia direta da raiz, é normalmente cinco a dez vezes maiores do que naqueles não-rizosféricos, podendo, em alguns casos, chegar a mais de 100 (Anderson et al., 1993). Assim, parcela significativa da competição entre plantas ocorre abaixo da superfície do solo, onde as rotas de ativação da expressão de genes em resposta à competição por água e nutrientes ainda não são completamente elucidadas e onde o sistema radicular exerce papel fundamental no processo competitivo (Rizzardi et al., 2001).

Portanto, a existência ou não de uma associação com microrganismos do solo pode ser decisiva diante de uma competição, principalmente para absorção de nutrientes, Ribeiro & Mendonça (2007) destacam que a associação entre microrganismos do solo e plantas é muito importante na disponibilidade de nutrientes minerais às espécies vegetais, principalmente nitrogênio e micronutrientes. Para Siqueira & Franco (1988), a sobrevivência e a capacidade produtiva dos vegetais estão condicionadas aos microrganismos do solo a eles associados.

Neste mesmo sentido, Scher & Baker, (1980) e Kao & Ko, (1983), objetivando identificar os efeitos do brometo de metila em solo, observaram que o tratamento do solo com este gás extermina esporos de fungos comprometendo a supressividade natural do solo. Por outro lado, tal microbiota é eficiente na utilização de fatores do meio como água, oxigênio e, principalmente, elementos minerais. Assim, a relação entre microrganismo e planta pode desfavorecer a absorção de elementos pelas raízes das plantas daninhas, prejudicando o

desenvolvimento de algumas espécies que não dependem de relações mutualísticas. Portanto, as plantas podem responder de maneira diferente diante da condição de esterilização do substrato para seu crescimento.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o desenvolvimento e quantificar o acúmulo de nutrientes na parte aérea de plantas daninhas e culturas em solo submetido ou não à esterilização.

3.4 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa, utilizando-se solo classificado como Argissolo Vermelho Amarelo.

Previamente, efetuou-se a análise química e física do solo (Tabela 1) e procedeu-se à fumigação com BROMEX® (brometo de metila 98% + cloropicrina 2%) na dosagem de 2,5 cm^3 L^{-1}. O solo foi submetido ao gás por 72 horas, utilizando-se uma caixa de policloreto de vinila (PVC). Em seguida o substrato foi transferido para vasos com capacidade para 6,0 litros, não havendo adubação. Ao mesmo tempo foram preenchidos vasos com o mesmo solo, porém não fumigado. Assim, para semeio das espécies, estas foram previamente tratadas com hipoclorito de sódio a 10% por 10 minutos, após imersão em álcool 70% por 40 segundos, seguido de três lavagens com água destilada (Agrios, 1997), seguindo-se ao semeio de 10 sementes em cada vaso.

Os tratamentos foram compostos pela combinação de oito espécies vegetais consideradas daninhas nas principais culturas tropicais (*Ageratum conyzoides* L., *Bidens pilosa* L., *Cenchrus echinatus* L., *Conyza bonariensis* L., *Echinochloa crus-galli* L., *Eleusine indica* L., *Ipomoea grandifolia* L. e *Lolium multiflorum* L.) e duas culturas (*Phaseolus vulgaris* L. var. Ouro vermelho e milho *Zea mays* L. var. UFV - M100), em solo sujeito ou não à esterilização, estabelecendo assim, delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 10, com quatro repetições.

Após emergência das plântulas, procedeu-se ao desbaste deixando-se duas plantas por vaso e durante a condução do experimento, todos os cuidados referentes aos tratos sanitários foram realizados, sendo a irrigação feita com água destilada.

Aos 50 dias após a semeadura foram realizadas, em todas as espécies, as seguintes avaliações: altura de plantas, número de folhas, área foliar e massa seca de raízes. Para aquelas espécies que apresentaram mudança de estádio fenológico vegetativo/reprodutivo até essa data, seguiu-se também à contagem do número de dias para o florescimento. Em seguida, destacou-se a parte aérea das plantas e as mesmas foram acondicionadas em estufa a 65 °C até atingirem peso constante, procedendo-se a pesagem e posterior moagem em moinho do tipo Willey. Amostras desse material vegetal moído foram submetidas à digestão nitro-perclórica. Em seguida, foram determinadas as concentrações de fósforo (P), pelo método da vitamina C modificado (Braga & De Fellipo, 1974); de potássio (K), por fotometria de chama (Sarruge & Haag, 1974); de enxofre (S), por turbidimetria do sulfato (Jackson, 1958); e de cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn) e cobre (Cu), por espectrofotometria de absorção atômica (AOAC, 1975).

Os valores foram convertidos em porcentagem em relação à planta crescida no solo não-esterilizado para cada espécie. Todas as variáveis atenderam às pressuposições de normalidade e homogeneidade e foram submetidas à análise de variância, sendo as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

3.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que, no geral, as espécies daninhas apresentaram desenvolvimento melhor em solo fumigado (Tabela 2). Este fato contrasta com outros resultados relatados, segundo os quais a presença da microbiota do solo favorece o crescimento vegetal (Anderson et al., 1993; Torsvik & Øvreås, 2002). No entanto, é amplamente discutida no meio científico a importância da associação entre microrganismos do solo e plantas (Chu et al., 2001; Moço, 2005; Souto et al., 2008) principalmente em condições de baixa fertilidade como o solo em questão (Tabela 1). Essa interação é responsável, muitas vezes, pela melhoria na capacidade de absorção de nutrientes e água do solo, além da fixação biológica de nitrogênio. Contudo, sabe-se que vários organismos do solo, eficientes na assimilação de nutrientes, podem também causar injúrias a diversas espécies vegetais. Neste sentido, Wright et al., (1998) avaliando a influência da colonização micorrízica na biomassa e fotossíntese em *Trifolium repens*, verificaram relação direta entre taxa fotossintética e porcentagem de associação, porém não houve evidência de que o carbono

adicional fosse convertido em acúmulo de biomassa, sugerindo que este carbono foi alocado ao fungo micorrízico presente.

A redução das interações entre plantas e microrganismos pode ser particularmente benéfica àquela quando evita a presença de patógenos junto à rizosfera. Nesse sentido, a fumigação do solo se torna muito importante contra espécies como Rhizoctonia, Pythium e Phytophthora que não possuem especificidade pelo hospedeiro (Martins et al., 2003). Estes fungos matam as plantas rapidamente por meio de enzimas ou causam injúrias, prejudicando o crescimento e o desenvolvimento (Bedendo, 1995). Baptista et al., (2006) relatam que o tratamento de substrato com brometo de metila reduziu significativamente a população de nematóides causadores de doença em plantas de tomate.

As espécies *Cenchrus echinatus, Echinochloa crus-gali*, *Eleusine indica, Lolium multiflorum e Zea mays* se desenvolveram melhor em solo fumigado (Tabela 2). Sabe-se que evolutivamente plantas e microrganismos se associaram por meio do aprimoramento de um sistema de sinalização química, normalmente por excreções de elementos minerais, aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares, para favorecer o crescimento de microrganismos na rizosfera, sendo 30% dos carboidratos produzidos pela fotossíntese, utilizados na manutenção de simbiontes (Tokeshi, et al., 2000). Portanto, é provável que para várias espécies vegetais, incluindo as plantas daninhas aqui avaliadas, a diminuição da microbiota associada à rizosfera, resulte em benefícios para a planta, por meio do melhor aproveitamento do carbono. Além disso, as gramináceas possuem sistema radicular mais volumoso e agressivo, permitindo melhor exploração do solo e, conseqüentemente, menor dependência de simbiontes. Comparando-se plantas daninhas às culturas, pode-se afirmar que milho e feijão foram menos afetados em função do tratamento do solo com brometo. É provável que o melhoramento genético que essas espécies vêm sofrendo nos últimos anos tenha contribuído para esse resultado.

Plantas com crescimento prejudicado pela fumigação do solo podem indicar dependência de microrganismos. Tal ocorrência foi observada para *Conyza bonariensis*, que apresentou menor teor de nutrientes em solo previamente tratado com brometo de metila (Tabelas 4).

Aos 50 dias após semeio, quatro espécies atingiram estádio fenológico reprodutivo, sendo que o tratamento do solo com brometo de metila antecipou o processo em uma semana para *B. pilosa*, *E. indica* e *C. echinatus* (Tabela 3). É relatada a capacidade que algumas plantas daninhas apresentam em antecipar o ciclo reprodutivo em funções de estresses edafoclimáticos (Silva et

al., 2007). Assim, para as espécies mencionadas, a esterilização do substrato pode ter impedido e, ou diminuído o acesso a um ou mais recursos do meio, resultando em estresse e antecipação da fase reprodutiva.

Para o acúmulo de macronutrientes em substrato tratado com brometo, observou-se maior favorecimento no acúmulo de fósforo para as gramíneas (Tabela 4). As plantas afetadas negativamente pelo substrato fumigado, para esse nutriente, foram *B. pilosa* e *C. bonariensis* (Tabela 4). Por meio da avaliação conjunta dos valores de massa seca e conteúdo de nutrientes, percebe-se relação proporcional entre produção de raízes e acúmulo de fósforo nos tecidos, evidente para *B. pilosa* e *C. bonarienesis* (Tabelas 2 e 4). Aguiar et al., (2004) trabalhando com solo previamente esterilizado, observaram que a espécie vegetal *Prosopis juliflora* foi considerada indiferente para o teor de fósforo em seus tecidos em função da associação facultativa com fungos formadores de micorriza. Portanto, é provável que *B. pilosa* e *C. bonariensis* sejam dependentes de tal associação. Entre os demais macronutrientes, ênfase pode ser dada ao enxofre em função da discrepância de valores encontrados na comparação entre *B. pilosa* (164,58 % a mais que sua testemunha) e *C. echinatus* (30,08 % a menos, também baseada em sua testemunha) (Tabela 4).

Ainda considerando macronutrientes, na comparação entre as espécies vegetais, pode-se destacar *C. bonariensis* pelos baixos valores encontrados nas plantas desenvolvidas em solo tratado com brometo (Tabela 4). Recentemente, essa espécie tem se destacado como planta daninha em função da dificuldade de controle, particularmente pelo método químico, associado à maior ocorrência de casos de populações de biótipos resistentes aos herbicidas (Moreira et al., 2007; Lazaroto et al., 2008). Para Lazaroto et al., (2008) o controle cultural, incluindo rotação de culturas, é o método mais eficiente para o controle dessa espécie vegetal.

Em relação ao acúmulo de micronutrientes, entre os elementos, destaca-se o manganês com elevação do acúmulo nos tecidos, em solo tratado com brometo, para todas as espécies vegetais avaliadas (Tabela 4). Os valores relativos de aumentos variam desde 17,95 % (*C. bonariensis*) até 421,18 % (observado em *B. pilosa*). No solo, algumas reações de oxiredução influenciam muito a disponibilidade de nutrientes às plantas, que por sua vez são também bastante influenciadas por microrganismos ali presentes (Ribeiro & Mendonça, 2007). Segundo Tisdale et al., (1985), a microbiota edáfica é capaz de promover a oxidação do manganês (Mn^{2+}) em complexos estáveis com a matéria orgânica do solo, tornando-o indisponível às plantas, dessa

forma, podendo resultar nos valores elevados desse nutriente observados em solo esterilizado. Além disso, o manganês é absorvido na forma reduzida (Mn^{2+}) sendo a forma oxidada (Mn^{4+}) presente em complexos insolúveis (Marschner, 1995), sendo o balanço entre elas governado pela comunidade microbiana do solo, ausente ou em menor quantidade no solo tratado com brometo.

Entre as espécies vegetais, mais uma vez *C. bonariensis* apresentou os mais baixos valores para o conteúdo relativo de zinco, ferro, manganês e cobre.

Considerando os resultados encontrados para *C. bonariensis*, pode-se inferir elevada dependência dessa espécie a microrganismos do solo. O tratamento do solo com brometo, além de diminuir relativamente altura, área foliar e massa seca de plantas, também promoveu menor acúmulo de macronutrientes nos tecidos foliares (Tabelas 2 e 4). Em trabalhos avaliando sistemas de plantio, outra espécie do gênero Conyza (*Conyza canadensis*) foi encontrada em mais de 60% das lavouras que não receberam preparo do solo, comparado a 8% em lavouras manejadas no sistema convencional com aração e gradagem (Barnes et al., 2006). Tal fato evidencia dependência da espécie por ambientes menos "perturbados". Em revisão sobre *C. bonariensis*, realizada por Lazaroto et al., (2008), constatou-se tratar de uma espécie que apresenta eficiente adaptabilidade ecológica em sistemas conservacionistas, como semeadura direta ou cultivo mínimo de solo. Segundo os autores, tais sistemas induzem a maior pressão de seleção, quando se usam dessecantes em etapa de pré-plantio, principalmente glyphosate, tal hipótese explicaria o excessivo aumento nos casos de biótipos resistentes. Dessa forma, o estudo aprofundado da relação entre *C. bonariensis* e a microbiota do solo poderá auxiliar no desenvolvimento de estratégias de manejo dessa planta daninha.

Conclui-se que, em solo tratado com brometo de metila, houve tendência de favorecimento a gramináceas. Sendo a espécie C*onyza bonariensis*, dependente da biota do solo para desenvolvimento normal. As plantas daninhas *Bidens pilosa*, *Eleusine indica* e *Cenchrus echinatus* anteciparam o estágio reprodutivo em solo fumigado. Neste tratamento, o conteúdo de fósforo acumulado foi menor em plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza bonariensis*. Além disso, comparando-se plantas daninhas e culturas, milho e feijão sofreram menos o efeito da fumigação do solo.

3.6 - LITERATURA CITADA

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**, Academic Press, University of Florida, 1997, 635 p.

AGUIAR, R. L. F. et al . Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth of Prosopis juliflora (Sw) DC. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 4, 2004.

ANDERSON, T. A. et al., Bioremediation in the rhizosphere: plant roots and associated microbes clean contaminated soil. **Environmental Science Technology**, v. 27-2630-2636, 1993.

AOAC - Association of official analytical chemists. **Official methods of analysis**. 12 ed. Washigton, D. C., 1975, 1094 p.

AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L., (Eds.). **Processos biológicos do sistema solo-planta**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 181-200.

ARTHUR, E. L. et al., Degradation of an atrazine and metolachlor herbicide mixture in pesticide-contaminated soils from two agrochemical dealerships in Iowa. **Water, Air, Soil Poll**., 119:75-90, 2000.

BAPTISTA M. J. et al., Solarização do solo e biofumigação no cultivo protegido de tomate. **Horticultura Brasileira**, v.24. v. 47-52. 2006.

BARNES, J. et al., **Crop rotation and tillage system influence late-season incidence of giant ragweed and horseweed in Indiana soybean**. 2004. Capturado em 26 jun. 2006. Online. Disponível na Internet: http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/brief/2004/late/.

BEDENDO, I. P. Ambiente e doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo : Agronômica Ceres, 1995. p. 331-342.

BRAGA, J. M. & DE FELLIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Revista Ceres,** v. 21, n. 113, p. 73-85, 1974.

CHU, E. Y.; MOLLER, M. R. F.; CARVALHO, J. G. Efeitos da inoculação micorrízica em mudas de gravioleira em solo fumigado e não fumigado. **Pesquisa agropecuaria brasileira**, vol. 36, no. 4, 2001.

HSU, T. S. & BARTH, R. Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, v.37 p.36-41, 1979.

JACKSON, M. L. **Soil chemical analysis**. New Jersey, Prentice Hall, Inc., 1958. 498 p

KAO, D. W. & K. O, W. H. Nature of suppression of *Pythium splendens* in a pasture soil in South Kahala, Hawaii. **Phytopathology**, v.73, p.1284-1289, 1983.

LAZAROTO, C. A.; FLECK, N. G.; VIDAL, R. A. Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*). **Ciencia Rural**, v.38, n.3, p.852-860, 2008.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. New York : Academic, 1995. 889 p.

MARTINS, M. V. V. et al . Erradicação de escleródios de Sclerotium rolfsii em substratos tratados em coletores solares, em Campos dos Goytacazes-RJ. **Revista Brasileira de Fruticultura.** Jaboticabal, v. 25, n. 3, 2003.

MOÇO, M. K. S et al., Caracterização da fauna edáfica em diferentes coberturas vegetais na região norte fluminense. **Revista Brasileira de Ciência do Solo.** V. 29. p-565-571. 2005.

MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.

MOREIRA, M. S. et al., Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta daninha**, v.25, n.1, p.157-164, 2007.

NÜSSLEIN, K. & TIEDJE, J. M., Soil bacterial community shift correlated with change from forest to pasture vegetation in a tropical soil. **Applied and Environmental Microbiology** p. 3622 - 3644, 1999.

PAOLETTI, M. G. & BRESSAN, M. Soil invertebrates as bioindicators of human disturbance. **Critical Review in Plant Sciences**, v.15, p.21-62, 1996.

PITELLI, R. A. **Competição e controle de plantas daninhas em áreas agrícolas.** IPEF, v.4, n.12, p.25-35, 1987.

RIBEIRO, I. & MENDONÇA, E. S. Matéria Orgânica do Solo. In. NOVAIS et al. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG. Editora: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. UFV. 2007. 1017p.

RIZZARDI, M. A. et al. Competition between weeds and crops by soil resources. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 4, 2001.

SARRUGE, J. R. & HAAG, H. P. **Análise química em plantas. Piracicaba**: ESALQ, Departamento de Química, 1974. 56p.

SCHER, F. M. & BAKER, R. Mechanism of biological control in a *Fusarium* suppressive soil. **Phytopathology**, v.70, p.412-417, 1980.

SILVA, A. A. et al. Biologia de Plantas Daninhas . In. SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas**. Viçosa, MG. Universidade Federal de Viçosa. Editora UFV. 2007. 367p.

SIQUEIRA J. O. & FRANCO A. A. **Biotecnologia do solo** – Fundamentos e perspectivas. Brasília: MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS, 236 p. 1988,

SOUTO, P. C.; SOUTO, J. S.; MIRANDA, J. R. P. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob caatinga no semi-árido da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 32, n. 1. 2008

SWIFT, M.J.; HEAL, O.W. & ANDERSON, J.M. Decomposition in terrestrial ecosystem. Oxford, **Blackwell**, 1979. 372 p.

TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. **Soil fertility and fertilizers**. New York, 1985. 754p.

TOKESHI, H. Doenças e pragas agrícola geradas e multiplicadas pelos agrotóxicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, p.264-270, 2000.

TORSVIK, V. & ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 240–245, 2002.

TORSVIK, V. et al., Comparison of phenotypic diversity and DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 56, p. 776-781, 1990.

WRIGHT, D. P.; SCHOLES, J. D.; READ, D. J. (1998) Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. **Plant, Cell & Environment**. 21 (2), 209–216. 1998.

Tabela 1 – Classificação físico-química do solo Argissolo Vermelho-Amarelo utilizado no experimento. Viçosa-MG, 2009.

Análise granulométrica (dag kg^{-1})										
Argila		Silte	Areia fina		Areia grossa		Classificação textural			
39		13	15		33		Argilo-arenosa			
Análise Química										
pH	P	K^+	H + Al	Al^{3+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	CTC $_{total}$	v	m	MO
H_2O	mg dm^{-3}		$cmol_c$ dm^{-3}					%		dag kg^{-1}
5,1	0,5	16	6,18	1,1	0,1	0,0	6,09	2	88	2,18

Análises realizadas nos Laboratórios de Análises Físicas e Químicas de Solo do Departamento de Solos da UFV, segundo método descrito pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa (1997).

Tabela 2 - Altura de plantas, número de folhas, área foliar, massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR) e massa seca total (MST), para diferentes espécies vegetais, após cultivo por 50 dias em solo fumigado com brometo de metila e solo não-fumigado. Viçosa-MG, 2009.

Espécie vegetal	Altura	Folhas	Área foliar	MSPA	MSR	MST
	------ *% em relação às plantas cultivadas em solo não fumigado* --------					
Ageratum conyzoides	133,04 a	107,89 bc	99,31 d	79,78 e	88,10 bcd	84.09 c
Bidens pilosa	104,94 ab	216,67 a	194,69 c	104,21 cde	68,72 d	86.72 c
Cenchrus echinatus	103,26 ab	114,19 bc	80,00 d	111,08 bcde	111,26 ab	111.15 ab
Conyza bonariensis	52,17 c	49,15 d	60,87 d	37,04 f	81,15 bcd	58.94 d
Echinochloa crus-galli	118,93 ab	102,88 bc	222,41 bc	157,56 a	104,58 abc	131.35 a
Eleusine indica	113,39 ab	138,42 bc	275,55 b	138,37 abc	128,31 a	134.16 a
Ipomoea grandifolia	103,26 ab	93,41 cd	107,95 d	103,80 de	109,25 abc	99.14 bc
Lolium multiflorum	91.27 b	146,91 b	393,31 a	132,72 abcd	68,93 d	108.59 ab
Phaseolus vulgaris	91,32 b	102,56 bc	98,68 d	98,46 e	96,11 bcd	101.30 bc
Zea mays	95,53 b	105,88 bc	100,42 d	144,32 ab	79,44 cd	112.00 ab
C.V. (%)	*---15,30---*	*---18,74---*	*---25,54---*	*---13,92---*	*---14,66---*	*---11,23---*

Médias seguidas por letras iguais em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Número de dias para o florescimento em quatro espécies de plantas daninhas cultivadas por 50 dias em solo fumigado com brometo de metila e solo não-fumigado. Viçosa-MG, 2009.

Solo	Intervalo entre semeadura e florescimento (dias)			
	Bidens pilosa	*Eleusine indica*	*Ageratum conyzoides*	*Cenchrus echinatus*
Não fumigado	44,75 a	42,25 a	43,50 a	48,25 a
Fumigado	35,50 b	37,25 b	43,75 a	41,75 b
C.V. (%)	----------*4,71*----------			

Médias seguidas por letras iguais em cada coluna não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Tabela 4 - Acúmulo de macro e micronutrientes em 10 espécies vegetais após desenvolvimento por 50 dias em solo fumigado com brometo de metila e não-fumigado. Viçosa-MG, 2009.

Espécie vegetal	P	K	S	Ca	Mg
	---- % em relação às plantas cultivadas em solo não-fumigado -----				
Agerathum conyzoides	144.09 b	135.13 ab	161.65 b	103.70 bc	106.21 b
Bidens pilosa	78.69 cd	113.60 b	264.58 a	168.61 a	81.51 c
Cenchrus echinatus	188.19 a	165.48 a	69.92 d	143.78 ab	49.74 d
Conyza bonariensis	68.95 d	54.85 d	74.05 d	48.67 d	40.69 d
Echinocloa crus-galli	197.48 a	161.89 a	121.11 c	128.86 b	92.25 bc
Eleusine indica	159.67 b	165.41 a	86.82 d	123.21 b	136.45 a
Ipomoea. grandifolia	157.94 b	157.37 a	174.69 b	94.08 c	114.39 b
Lolium multiflorum	110.64 c	108.96 bc	142.85 bc	96.95 c	103.71 b
Phaseolus vulgaris	94.71 c	95.70 c	110.27 c	92.21 c	107.56 b
Zea mays	198.42 a	158.71 a	123.33 c	140.81 ab	138.14 a
CV (%)	*--- 9.43---*	*---6.2---3*	*---8.76---*	*---8.45---*	*---10.12---*

Espécie vegetal	Zn	Fe	Mn	Cu
Agerathum conyzoides	140.32 b	169.19 a	258.94 d	151.11 b
Bidens pilosa	132.59 b	100.57 bc	521.18 a	94.26 d
Cenchrus echinatus	108.88 c	148.31 a	201.75 e	217.74 a
Conyza bonariensis	57.34 d	66.33 d	117.95 f	52.40 e
Echinocloa crus-galli	142.22 b	87.10 c	186.25 e	135.15 bc
Eleusine indica	182.25 a	105.70 bc	308.86 c	132.02 bc
Ipomoea. grandifolia	130.96 b	114.02 b	410.67 b	125.74 c
Lolium multiflorum	116.03 bc	83.32 cd	191.06 e	140.11 bc
Phaseolus vulgaris	92.16 c	93.33 bc	168.28 e	98.80 d
Zea mays	173.8 a	101.19 bc	222.18 d	193.37 a
CV (%)	*---4.12---*	*---9.75---*	*---15.11---*	*---7, 68---*

Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. OCORRÊNCIA DE FUNGOS MICORRÍZICOS NAS RAÍZES DE PLANTAS DANINHAS E POTENCIAL DE SOLUBILIZAÇÃO DE FOSFATO INORGÂNICO DA MICROBIOTA RIZOSFÉRICA ASSOCIADA

4.1 - RESUMO

Objetivou-se, com este trabalho, verificar a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de 36 espécies vegetais, pertencentes às famílias: Amaranthaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Commelinaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Gramineae, Labiatae, Lythraceae, Malvaceae, Sapindaceae, Solanaceae, Urticaceae e Verbenaceae, comumente infestantes em lavouras brasileiras. Para esta observação, utilizou-se o método de clarificação com KOH e coloração com azul de tripano. Ainda, Foram selecionadas 11 espécies, visando estimativa do potencial de solubilização de fosfato inorgânico no solo rizosférico. Para isso, efetuou-se a incubação do solo rizosférico em meio de cultura NBRIP e a posterior quantificação do fósforo no sobrenadante. A biomassa microbiana foi estimada pelo método de irradiação-extração, permitindo assim, a obtenção do índice de solubilização relativa de fosfato (P liberado/biomassa microbiana). Observou-se que todas as plantas avaliadas apresentaram colonização micorrízica, com destaque para a família Brassicaceae, até então sem relato na literatura. Na maioria das espécies, ocorrem os dois tipos morfológicos de arbúsculos e enovelados de hifas no interior das células, sendo este último mais comum entre as gramíneas. Fungos endofíticos do tipo dark septate mycelium foram visualizados em grande parte das famílias estudadas. As plantas daninhas *Amaranthus retroflexus*, *Bidens pilosa* e *Leonotis nepetaefolia* apresentaram elevados valores de solubilização relativa, caracterizando a população microbiana, associada à rizosfera, como eficiente na solubilização de fosfato inorgânico.

Palavra-chave: micorrizas; dark septate mycelium; *Sinapis arvensis* L.

4.2 - ABSTRACT

The objective of this work was to verify, by using the method for clarification with KOH and trypan blue staining, arbuscular mycorrhizal fungi occurrence in weed roots from Amaranthaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Commelinaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Gramineae, Labiatae, Lythraceae, Malvaceae, Sapindaceae, Solanaceae, Urticaceae and Verbenaceae families. To verify the potential of inorganic phosphate solubilization, 11 species were selected; being the rhizospheric soil incubated in NBRIP and later, the phosphate quantified

in the supernatants. By using the extraction-irradiation method, the microbial biomass was valued, allowing obtaining relative phosphate solubilization (free P / microbial biomass). All families showed mycorrhizal colonization, high lightening Brassicaceae. Most of the species showed both the two arbuscular morphological types and ball hyphae inside cells. Dark septate endophytic fungi were viewed in most of the families. High values of relative solubilization were for *Amaranthus retroflexus*, *Bidens pilosa* and *Leonotis nepetaefolia,* characterizing the microbial population associated to the rhizosphere, as efficient on inorganic phosphate solubilization.

Key word: mycorrhiza; dark septate; *Sinapis arvensis* L.

4.3 - INTRODUÇÃO

Objetivando-se a diminuição do uso de defensivos agrícolas sem, contudo, diminuir a produção e a rentabilidade, tornam-se cada vez mais importantes no cenário agrícola, estudos sobre ecologia dos organismos envolvidos no processo produtivo. Além disso, a sustentabilidade ambiental na agricultura passou a ser requisito tão prioritário quanto produzir bem e com retorno econômico. Segundo Kitamura (2003), o futuro da agricultura brasileira em direção à sustentabilidade requer introdução de inovações na agricultura intensiva convencional, tornando-a cada vez mais responsável pelo meio ambiente.

As diversas espécies vegetais cultivadas são afetadas pelas plantas infestantes ao seu redor e, juntas sofrem interferência da presença de outros organismos, principalmente os microrganismos do solo.

As plantas consideradas daninhas têm comprovadamente grande agressividade condicionada, muitas vezes, pela maior produção de sementes, germinação desuniforme, bem como crescimento inicial rápido, plasticidade fenotípica, ciclo curto, adaptação a diferentes ambientes, produção de substâncias prejudiciais ou mesmo inibitórias a outras espécies, hábito trepador, capacidade maior de absorção de elementos minerais e água dentre outras características (Pitelli, 1987). Nesse sentido, considerando essa grande capacidade adaptativa, torna-se questionável a definição “plantas infestantes”, haja vista seu estabelecimento *a priori* em locais onde serão introduzidas culturas melhoradas geneticamente para produzirem mais e melhor com objeto de comercialização.

A vantagem competitiva observada em campo pelas plantas daninhas sobre as culturas pode ser em parte, resultante da interação dessas espécies com diversos grupos de microrganismos do solo (Reinhart & Callaway, 2006). Essa associação proporcionaria às espécies vegetais envolvidas, maior eficiência no uso dos recursos disponíveis, principalmente água e nutrientes (Sylvia & Williams, 1992; Smith & Read, 1997).

A adaptabilidade de uma espécie vegetal em determinado ambiente está intimamente atribuída à sua relação com os fatores do mesmo, dessa forma, para sucesso no desenvolvimento de planta, é importante que outras espécies vegetais, bem como macro- e microrganismos e condições ambientais estejam interligados, favorecendo a produção de dissemínulos da espécie em questão (Reinhart & Callaway, 2006).

Vários autores relataram a maior capacidade de adaptação e desenvolvimento de plantas em ambientes que permitem a associação com microrganismos do solo (Siqueira & Franco, 1988; Aquino & Assis, 2005; Ribeiro & Mendonça, 2007), sendo a rizosfera o sítio onde ocorre exsudação constante e relativa de nutrientes da planta para o solo. O aporte de compostos orgânicos na rizosfera promove o efeito rizosférico, caracterizado pela maior proliferação das populações microbianas no local. Desta forma, o número de microrganismos nos solos rizosféricos é normalmente cinco a dez vezes maiores em relação ao solo não-rizosférico, podendo, em alguns casos, chegar a mais de 100 vezes (Anderson et al., 1993).

Em se tratando de associações mutualistas, um caso importante para a comunidade vegetal é a simbiose entre raízes e fungos formadores de micorrizas, proporcionando vantagens às plantas como maior absorção de elementos minerais e água, proteção contra patógenos e/ou efeitos tóxicos provocados por determinados íons (Herrman et al., 2004). Também os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são intensamente influenciados pelas espécies vegetais às quais se relacionam. Tal associação tem sido classificada como chave na estruturação entre espécies em um ambiente, possibilitando a comunicação entre plantas no subsolo por meio de hifas (Wardle, 2002). Plantas micorrizadas têm comprovadamente maior acesso a nutrientes do solo, principalmente o fósforo (Selosse, et al., 2004), nutriente muito limitante para produção vegetal em boa parte dos solos brasileiros. Além da comprovada contribuição dos FMAs para maior obtenção de P do solo, a associação de plantas a outros microrganismos também é de suma importância no acesso a este elemento (Whitelaw et al. 1999; Reyes et al. 1999 & Souchie et al. 2005). Uma parcela da biomassa microbiana excreta ácidos orgânicos que dissolvem o material

fosfático ou promove a quelação de cátions que acompanham o ânion fosfato, ocorrendo a liberação do P (Kucey, 1983). Sabe-se que a população e atividade destes microrganismos solubilizadores de fosfato são influenciadas pelo manejo do solo (Nahas et al., 1994) e vegetação presente (Cross & Schlesinger, 1995).

Considerando a existência das associações entre microrganismos e plantas e, admitindo-se o benefício para essas quanto à absorção de nutrientes, particularmente o fósforo, Reis et al., (2008) propõem o quociente para avaliação da eficiência da atividade de solubilização de fosfato inorgânico, o qual indica a quantidade de P inorgânico liberada por unidade de biomassa microbiana rizosférica, denominada de solubilização relativa de fosfato inorgânico. Por meio desse quociente é possível identificar plantas com microbiota associada à rizosfera, mais eficientes em absorção de fósforo no solo.

As plantas não cultivadas na área agrícola, que em determinado momento interferem negativamente nas atividades realizadas pelo agricultor, nesse sentido, daninhas, fazem uso das associações anteriormente mencionadas permitindo às mesmas, maior sobrevivência, mesmo em condições de déficit hídrico ou nutricional. Por outro lado, a ocupação de ambientes edáficos por espécies vegetais com elevada capacidade associativa a microrganismos que, via simbiose, promovam maior extração de nutrientes, principalmente aqueles de baixa mobilidade, como o fósforo, permitirá maior reciclagem desse elemento. A partir do conhecimento das espécies que apresentam tal característica, estratégias de manejo podem ser direcionadas para seu favorecimento nos períodos entressafras, permitindo, além da cobertura do solo, possível contribuição com a adubação fosfatada.

Outra associação entre fungos e plantas condicionando benefícios a ambos é a simbiose entre os fungos Dark Septate Mycelium (DSM) e plantas. Os DSM já foram relatados para mais de 600 espécies vegetais e ocorrem frequentemente quando em condições de presença também de micorrizas, sugerindo interação semelhante (Lingfei et al., 2005), porém, a função destes fungos nas plantas ainda não está bem esclarecida, havendo necessidade de maiores estudos (Jumpponen & Trappe, 1998). Detmann et al, (2008) relatam a alta frequência de DSM em plantas de cerrado sugerindo um caráter generalista destes fungos como adaptação a condições adversas do cerrado. Visando avaliar melhor a função dos DSM em plantas, Jumpponen, (2001) consideram estes fungos como simbiontes a depender de condições ambientais. A metodologia de preparação do material radicular para observação de FMAs permite também a observação de

DSM, assim, torna-se apropriado a avaliação da colonização por fungos DSM também neste trabalho.

O aprofundamento no estudo da relação morfológica entre FMAs e as diversas plantas a eles associadas, têm distinguido dois tipos morfológicos, Arum e Paris, descritos primeiramente por Gallaud (1905). O primeiro tipo se caracteriza pela distribuição de hifas pelo córtex de maneira extracelular se estendendo ao longo do apoplasto, com formação de arbúsculos, já o tipo Paris se caracteriza pelo desenvolvimento extensivo de micélio intracelular formando assim novelos, intercalado com hifas arbusculares. Existem na literatura hipóteses para presença de determinada morfologia. Para Smith & Smith (1997) ocorre o tipo Arum na maioria das angiospermas enquanto o Paris é predominante em gimnospermas. Segundo Cavagnaro (2001) fatores ambientais como temperatura, intensidade de luz e umidade do solo determinam o tipo morfológico. Yamato & Iwasaki (2002) mostram que o tipo Arum é dominante em plantas herbáceas pioneiras e o tipo Paris ocorre com maior freqüência em plantas herbáceas de sub-bosque. Yamato, (2004) mostram que o tipo Arum é predominante em plantas daninhas de crescimento rápido e discutem a importância de estudos a fim de se definir o principal fator atuante na morfologia uma vez que não se sabe ao certo as diferenças funcionais entre os dois grupos.

Dessa forma, objetivou-se com este trabalho, verificar a ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em plantas daninhas e determinar a solubilização relativa de fosfato inorgânico por microrganismos rizosféricos das mesmas.

4.4 - MATERIAL E MÉTODOS

Seguiu-se à coleta em Fevereiro de 2008 de 36 espécies de plantas consideradas daninhas nas principais culturas de importância agrícola no Brasil, pertencentes a 14 famílias botânicas, em uma área de 0,8 ha nas coordenadas 20^{o} 46’ S de latitude e 42^{o} 52’ W de longitude, com altitude de 650 metros, no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV) – Viçosa/MG. Foi coletada uma planta por espécie quando encontrada isoladamente, em local isento da aplicação de defensivos nos últimos quatro anos.

Utilizando-se pá quadrada, retirou-se a planta juntamente com parte do solo suficiente para não prejudicar a rizosfera, sendo adicionada em baldes com capacidade para 5,0 L. Após isso, os recipientes contendo as plantas foram transportados para o laboratório para identificação

botânica das espécies. As plantas foram coletadas em pleno florescimento, considerando estádio de maior micorrização (Smith & Read, 1997).

Após identificação botânica, seguiu-se à separação de raízes e solo, lavando posteriormente as raízes em água corrente. Retirou-se 1,0 g de raízes em pedaços de 1,0 a 2,0 cm e as mesmas foram preservadas em FAA 5:90:5 (formaldeído: etanol: ácido acético) e transportadas para o laboratório de Associações Micorrízicas da UFV, onde foram lavadas e clarificadas com KOH a 10%, após isso, foram submetidas à coloração com azul de tripano, procedendo-se à observação de estruturas fúngicas conforme Giovannetti & Mosse (1980). O procedimento permitiu também detectar a presença de Dark Septate Mycelium.

Os seguimentos de raízes foram observados previamente em placa de petri utilizando-se uma lupa binocular com aumento de 40 vezes, sendo após seleção, confeccionadas lâminas para observação em microscópio óptico Olympus BX50. As estruturas fúngicas foram fotografadas com câmera digital Qcolor 3 Olympus utilizando-se o programa QCapture Pro 6.0.0.412 para capturar as imagens. Avaliou-se a presença ou ausência de micorrizas por meio da observação de suas estruturas como vesículas, esporos e hifas, o tipo morfológico e a ocorrência dos fungos Dark Septate Mycelium.

Amostras de solo rizosférico de 11 espécies das 36 coletadas, escolhidas em função da importância fitossociológica, foram submetidas à avaliação para determinação da solubilização de fosfato inorgânico e biomassa microbiana. Para estimativa do potencial da atividade solubilizadora, transferiu-se 1,0 g de solo das amostras para tubo de ensaio contendo meio líquido NBRIP, pH 6,8-7,0, composto por (g L^{-1}): glicose, 10; $Ca_3(PO_4)_2$, 5; $MgCl_2.6H_2O$, 0,5; $MgSO_4.7H_2O$, 0,25; KCl, 0,2; e $(NH_4)_2SO4$, 0,1 (Nautiyal, 1999). Após incubação por 15 dias a 27 ºC, a fase líquida foi submetida à centrifugação a 8.000 rpm por 20 min e determinou-se no sobrenadante a quantidade de P inorgânico pelo método colorimétrico da vitamina C modificado, a 725 nm (Braga & Defelipo, 1974). E, para biomassa microbiana, utilizou-se o método descrito por Vance et al. (1987), modificado por Islam & Weil (1998), no qual a fumigação do solo com clorofórmio foi substituída pela irradiação de microondas. Assim, determinou-se o índice de solubilização relativa de fosfato (P liberado/biomassa microbiana).

Após análise de variância a 5 % de significância, utilizou-se o critério de agrupamento de médias Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

4.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à colonização por FMAs e DSM, foram avaliadas 36 plantas daninhas pertencentes a 14 famílias botânicas: Amaranthaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Commelinaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Gramineae, Labiatae, Lythraceae, Malvaceae, Sapindaceae, Solanaceae, Urticaceae e Verbenaceae, observando-se colonização micorrízica em todas as espécies, caracterizada pela presença de estruturas como vesículas, hifas, arbúsculos e esporos. Enovelados de hifas foram visualizados em um maior número de plantas em relação a arbúsculos. Observou-se também a ausência de arbúsculos em gramíneas (Tabela 1 e Figura 1).

Os FMAs associam-se às raízes das plantas propiciando às mesmas, maior capacidade de competição e perpetuação (Siqueira & Saggin Júnior, 1995), dessa forma, a associação de plantas daninhas a FMAs influencia no processo de competição com as culturas de interesse econômico, uma vez que as últimas foram submetidas a processos de domesticação e programas de melhoramento, sendo a contribuição de tal associação, muitas vezes, desconsiderada. Segundo Reinhart & Callaway (2006) a biota do solo influencia de maneira positiva a dominância de uma planta invasora, destacando a necessidade de estudos mais aprofundados e globais. Estes autores ressalvam a correlação indireta entre presença de micorrizas e de patógenos em plantas daninhas.

Neste trabalho, observou a colonização micorrízica do tipo Arum em mostarda (*Sinapis arvensis* L.), planta da família Brassicaceae. Associações micorrízicas ocorrem em mais de 90 % das plantas terrestres (Selosse, et al., 2004), porém, existem famílias botânicas onde esta associação não é observada como em Brassicaceae e Cyperaceae (Souza, et al. 2006). É relatada também a ausência de colonização micorrízica em plantas de Proteaceae (Lamont, 2003), porém, avaliando a colonização micorrízica em solo com elevados teores de níquel e baixo de fósforo, Boulet & Lambers, (2005) relataram a presença de micorrizas em plantas de Proteaceae.

Os fungos DSM foram observados em plantas das famílias: Asteraceae, Amaranthaceae, Convolvulaceae, Verbenaceae, Labiatae, Malvaceae e Solanaceae (Tabela 1 e Figura 1). Já é relatada na literatura a associação destes fungos com mais de 600 espécies vegetais. Existe um questionamento sobre o papel destes fungos na associação com plantas, destacando-se a necessidade de trabalhos mais aprofundados (Jumpponen & Trappe, 1998) uma vez que estes simbiontes têm sua ocorrência relacionada a fatores abióticos, como baixa umidade no ambiente e comprimento do dia (Barrow & Aaltonen, 2001). Li & Guan (2007), relatam uma íntima relação entre DSM e micorrizas, sugerindo uma competição ou mesmo cooperação entre eles.

A maior dificuldade na apresentação de resultados comprovando a associação entre plantas e fungos DSM é explicada pela presença de determinados componentes na parede celular destes fungos como sugerido por (Barrow & Aaltonen, 2001). Nesse sentido, pode-se considerar satisfatórios os resultados observados com positividade para 12 das 36 espécies vegetais avaliadas (Tabela 1).

Para avaliação da solubilização fosfato por microrganismos rizosféricos, foram escolhidas 11 espécies no local em função de sua importância fitossociológica (segundo critérios estabelecidos por Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974). Plantas de *Bindes pilosa*, *Amaranthus retroflexus* e *Leonotis nepetaefolia* se destacaram na solubilização de fosfato (Figura 2). Em trabalhos realizados por Ronchi et. al, (2003), observou-se que baixa população de plantas de *B. pilosa*, promoveu extração de fósforo do solo 14 vezes maior que plantas de café, demonstrando o potencial competitivo dessa espécie em detrimento a outras plantas daninhas. Assim, plantas com elevada capacidade de solubilização de fosfato por microrganismos associados, devem ser consideradas em programas de manejo integrado da lavoura, uma vez que atuam na ciclagem de nutrientes, em especial o fósforo, elemento limitante na agricultura em solos tropicais.

Plantas daninhas têm capacidade diferenciada de absorção de nutrientes a depender da disponibilidade do elemento em questão no solo e muitas vezes, solos com elevados índices favorecem as plantas daninhas em detrimento às culturas (Tomaso, 1995). Da mesma forma, estas plantas têm eficiência diferenciada na utilização do elemento para formação de biomassa, sendo escassos na literatura, trabalhos visando identificar plantas com alto potencial de absorção de nutrientes em solos considerados pobres.

Avaliando a solubilização de fosfato em relação à biomassa rizosférica (solubilização relativa), plantas de *L. nepetaefolia*, *B. pilosa*, e *A. retroflexus* se destacaram em relação às outras (Figura 3). Pela solubilização relativa (fosfato liberado / biomassa microbiana) pode-se inferir sobre características intrínsecas de uma espécie em relação a outras, no trabalho em questão, as três espécies citadas apresentaram microbiota associada eficiente na solubilização de fosfato, sugerindo melhor desenvolvimento e acúmulo de fósforo.

Dessa forma, conclui-se que todas as espécies avaliadas apresentaram colonização por fungos micorrízicos, sendo que os tipos morfológicos de arbúsculo e enovelados de hifas ocorreram na maioria das espécies, com predominância do segundo. Porém, em gramíneas, não se observou o tipo morfológico de enovelados de hifas. Os Fungos Dark Septate Mycelium

ocorreram nas famílias: Asteraceae, Amaranthaceae, Convolvulaceae, Verbenaceae, Labiatae e Malvaceae, e a microbiota rizosférica, influenciada por plantas daninhas, possui capacidade diferenciada de solubilização de fosfato, com destaque para as espécies *Bidens pilosa*, *Leonotis nepetaefolia* e *Amaranthus retroflexus*.

4.6 - LITERATURA CITADA

ANDERSON, T. A.; GUTHRIE, E. A.; WALTON, B. T. Bioremediation in the rhizosphere: plant roots and associated microbes clean contaminated soil. **Environmental Science Technologi**., v. 27, p. 2630-2636, 1993.

AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L., (Eds.). **Processos biológicos do sistema solo-planta**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 181-200, 2005.

BARROW, J. R. & AALTONEN, R. E. Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. **Mycorrhiza**, v. 11. p. 199-205, 2001.

BOULET, F. M. & LAMBERS, H. Characterisation of arbuscular mycorrhizal fungi colonisation in cluster roots of *Hakea verrucosa* F. Muell (Proteaceae), and its effect on growth and nutrient acquisition in ultramafic soil. **Plant Soil.** v. 269, p. 357-367, 2005.

BRAGA, J. M.& DEFELIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Revista Ceres**, v. 21, n. 113, p. 73-85, 1974.

CAVAGNARO, T. R. et al. Quantitative development of Paris-type arbuscular mycorrhizas formed between Asphodelus fistulosus and Glomus coronatum. **New Phytologist,** v. 149, p. 105–113, 2001.

CROSS, A. F.; SCHLESINGER, W. H. A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. **Geoderma**, v.64, p.197-214, 1995.

DETMANN, K. et al., Comparação de métodos para a observação de fungos micorrízicos arbusculares e endofíticos do tipo dark septate em espécies nativas de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** v. 32, n. 5, 2008.

GALLAUD, I. Études sur les mycorrhizes endotrophes. **Revue Générale de Botanique**. V. 17, p 5-500. 1905.

GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v. 84, p. 489 – 500. 1980.

HERRMAN, S.; OELMMULLER, R.; BUSCOT, F. Manipulation of the onsetof. ectomycorrhyza formation by indole-3-acetic acid, activated charcoal or relative humidity in the association between oak micronutrients and Piloderma croceum influence on plant development and fhotosynthesis. **Journal of Plant Physiology**, v. 161 p. 509-17, 2004.

ISLAM, K. R. & WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil four routine measurement of microbial biomass carbon. **Biology and Fertility of Soils** v. 27, n. 4, p. 408-416, 1998.

JUMPPONEN, A. & TRAPPE, J. M. Dark Septate Endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. **New Phytologist.** v. 140, p. 295-310, 1998.

JUMPPONEN, A. Dark septate endophytes ó are they mycorrhizal? **Mycorrhiza** v.11: p. 207-211. 2001.

KITAMURA, P. C. Agricultura Sustentável no Brasil. Avanços e Perspectivas. **Ciência & Ambiente** 27: 7-28. 2003.

KUCEY, R. M. N. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Canadian Journal of Soil Science**, v.63, p.671-678, 1983.

LAMONT, B. B. Structure, ecology and physiology of root clusters – a review. **Plant Soil,** v. 248, p 1-19. 2003.

LI, A. R. & GUAN, K.Y. Mycorrhizal and dark septate endophytic fungi of *Pedicularis* species from Northwest of Yunnan Province, China. **Mycorrhiza**, v. 17. p.103-109, 2007.

LINGFEI, L. ANNA, Y. ZHIWEI, Z. Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China. **FEMS Microbiol Ecology**.v.54, p.367-373, 2005.

MUELLER-DOMBOIS, D.; ELLENBERG, H. A. **Aims and methods of vegetation ecology**. New York: John Wiley, 547 p. 1974.

NAHAS, E.; CENTURION, J. F.; ASSIS, L. C. Microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.18, p.43-48, 1994.

NAUTIYAL, C. S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 170, n. 1, p. 265-270, 1999.

PITELLI, R. A. Competição e controle de plantas daninhas em áreas agrícolas. **IPEF**, v.4, n.12, p.25-35, 1987.

REINHART, K. O & CALLAWAY. R. M. Soil biota and invasive plants. **New Phytologist.** v. 170, n.3, p. 445–457, 2006.

REIS, M. R. et al., Ação de herbicidas sobre microrganismos solubilizadores de fosfato inorgânico em solo rizosférico de cana-de-açúcar. **Planta daninha**, v. 26, n. 2, 2008

REYES, I. et al., Effect of nitrogen source on the solubilization of different inorganic phosphates by an isolate of *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. **FEMS Microbiology Ecology**, v.28, p.281-290, 1999.

RIBEIRO, I. & MENDONÇA, E. S. Matéria Orgânica do Solo. In. NOVAIS et al. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG. Editora: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. UFV. 1017p. 2007.

RONCHI, C. P. et al. Acúmulo de nutrientes pelo cafeeiro sob interferência de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 219-227, 2003.

SELOSSE, M. A. BAUDOIN, E. & VANDENKOORNHUYSE, P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants**. Comptes Rendus Biologies**, v. 327, n. 7 p. 639-648. 2004.

SIQUEIRA J. O. & FRANCO A. A. **Biotecnologia do solo** – Fundamentos e perspectivas. Brasília: MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS, 1988, 236 p.

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN JR., O. J. The importance of mycorrhizae association in natural low-fertility soils. In: International symposium on enviromental stress, 1., 1992, Belo Horizonte. Maize in perspective: proceedings. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS/México : CIMMYT/ UNDP, p.239-280. 1995.

SMITH F. A., SMITH S. E. Tansley Review No. 96. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. **New Phytologist** v. 137, p.373–388, 1997.

SMITH, S. E. & READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**. London. 605 p.1997.

SOUCHIE, E. L. et al. Phosphate solubilization in solid and liquid media by soil bacteria and fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, 2005.

SOUZA, V. C. et al. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, 2006.

SYLVIA, D. M. & WILLIAMS, S. E. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress. In: BETHLENFALVAY, G. J.; LINDERMAN, R. G. (Ed.). **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Madison: ASA Special Publication, p. 101-124. 1992.

TOMASO, J. M. Approaches for improving crop competitiveness through the manipulation of fertilization strategies. **Weed Science**, v. 43, p. 491-497, 1995.

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

WARDLE, D. A. Communities and Ecosystems: **Linking Aboveground and Belowground Components**. Princeton: Princeton University Press, 2002.

WHITELAW, M. A.; HARDEN, T. J.; HELYAR, K. R. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum.* **Soil Biology and Biochemistry**, v.31, p.655-665, 1999.

YAMATO, M. & IWASAKI, M. Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of forest floor plants. **Mycorrhiza, v.** 12, p.291–296, 2002.

YAMATO, M. Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of weeds on vacant land. **Mycorrhiza** n. 14, p.127-131, 2004.

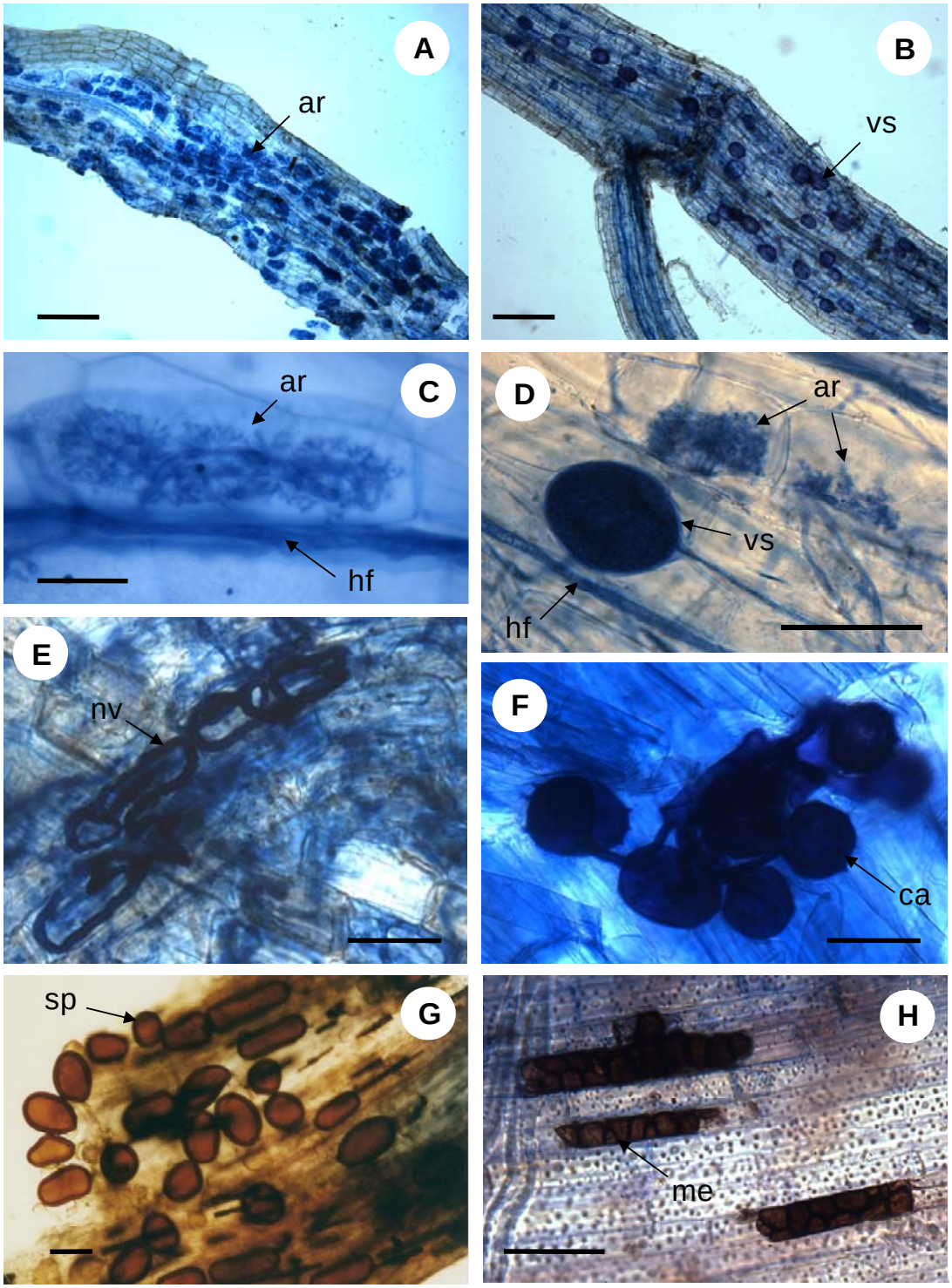

Figura 1 - Fungos Micorrízicos Arbusculares › Dark Septate Mycelium em: (A) *Amaranthus retroflexus* (barra = 150 µm), (B) *Cuphea balsamona* (barra = 150 µm), (C) *Leonurus sibiricus* (barra = 10 µm), (D) *Leonotis nepetaefolia* (barra = 100 µm), (E) *Sorghum arundinaceum* (barra = 100 µm), (F) *Eupatorium urticaefolium* (barra = 100 µm), (G) *Panicum maximum* (barra = 20 µm) e (H) *Bidens pilosa* (barra = 10 µm). Estruturas: Arbúsculos (ar), Vesículas (vs), Hifas (hf), Novelos (nv), células auxiliares (ca), esporos (sp) e Dark Septate Mycelium (me). Viçosa-MG, 2009.

Tabela 1 - Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) e Dark Septate Mycelium (DSM) em plantas daninhas. Viçosa-MG, 2009.

Família	Espécie	FMA		DSM
		Arbúsculo	Enovelado de hifas	
Asteraceae	*Ageratum conyzoides*	Sim	Sim	Não observado
	Artemisia verlotorum	Sim	Sim	Não observado
	Bidens pilosa	Sim	Sim	Não observado
	Blainvillea rhomboidea	Sim	Sim	Sim
	Conyza bonariensis	Sim	Sim	Sim
	Emilia fosbergii	Sim	Sim	Não observado
	Eupatorium urticaefolium	Sim	Sim	Não observado
	Galinsoga parviflora	Sim	Sim	Não observado
	Porophyllum ruderale	Sim	Sim	Não observado
	Siegesbeckia orientalis	Sim	Sim	Não observado
	Sphagneticola trilobata	Sim	Sim	Não observado
	Vernonia polyanthes	Sim	Sim	Não observado
Amaranthaceae	*Amaranthus retroflexus*	Sim	Sim	Sim
	Amaranthus spinosus	Sim	Sim	Sim
Gramineae	*Andropogon bicornis*	Não observado	Sim	Não observado
	Cynodon dactylon	Não observado	Sim	Não observado
	Imperata brasiliensis	Não observado	Sim	Não observado
	Panicum maximum	Não observado	Sim	Não observado
	Paspalum cospersum	Não observado	Sim	Não observado
	Sorghum arundinaceum	Não observado	Sim	Não observado
Euphorbiaceae	*Chamaesyce hirta*	Sim	Sim	Não observado
	Chamaesyce hyssopifolia	Sim	Sim	Não observado
	Euphorbia heterophylla	Sim	Sim	Não observado
Commelinaceae	*Commelina benghalensis*	Sim	Não observado	Não observado
Lythraceae	*Cuphea aperta*	Não observado	Sim	Não observado
Convolvulaceae	*Ipomoea grandifolia*	Sim	Sim	Sim
Verbenaceae	*Lantana camara*	Sim	Sim	Sim
Labiatae	*Leonotis nepetifolia*	Sim	Não observado	Sim
	Leonurus sibiricus	Sim	Não observado	Sim
Urticaceae	*Pilea microphylla*	Sim	Sim	Não observado
Malvaceae	*Sida Rhombifolia*	Sim	Sim	Sim
	Sida santaremensis	Sim	Sim	Sim
Brassicaceae	*Sinapis arvensis*	Sim	Não observado	Não observado
Solanaceae	*Solanum americanum*	Sim	Sim	Sim
	Solanum lycocarpum	Não observado	Sim	Sim
Sapindaceae	*Cardiospermum halicacabum*	Não observado	Sim	Não observado

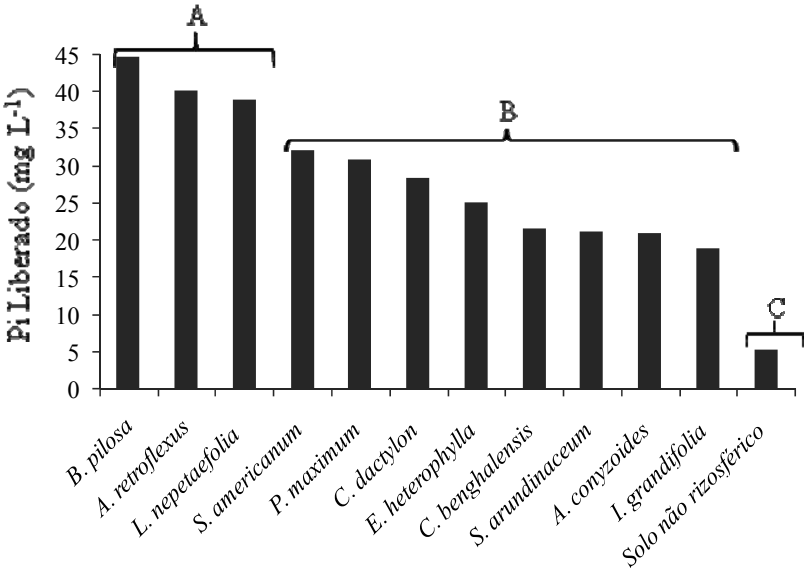

Figura 2 - Fósforo inorgânico (Pi) liberado após solubilização de $Ca_3(PO_4)_2$ por microrganismos rizosféricos de 11 espécies de plantas daninhas e solo não rizosférico. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo critério de agrupamento Scott Knott (P > 0,05). Viçosa-MG, 2009.

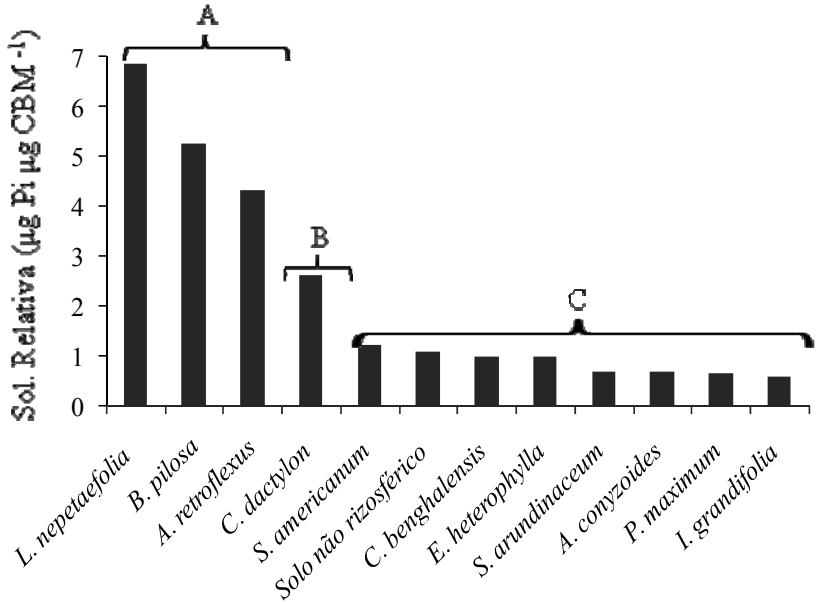

Figura 3 - Solubilização relativa de $Ca_3(PO4)_2$ (Pi liberado por unidade de Biomassa Microbiana) por microrganismos rizosféricos de 11 espécies de plantas daninhas e solo não rizosférico. Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo critério de agrupamento Scott Knott (P > 0,05). Viçosa-MG, 2009.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados, percebem-se oportunidades biotecnológicas visando práticas mais sustentáveis para a agricultura brasileira. A remediação de solos por plantas destaca-se como técnica promissora diante do alto número de moléculas contaminantes ao meio ambiente e diversidade de espécies vegetais a serem exploradas. No mesmo sentido, o conhecimento das diversas características das plantas daninhas, como sua capacidade de exploração do solo, adaptação a diferentes ambientes, acúmulo e posterior devolução de elementos minerais à solução do solo, características essas influenciadas por microrganismos do solo, devem ser destacadas. Observando-se, portanto, um excelente campo de exploração para futuras pesquisas em produção vegetal, pois, a evidência de que algumas plantas podem ser mais eficientes em campo em função da maior capacidade de extração de fósforo, resultante da associação com microrganismos, abre possibilidades para o estabelecimento de novos trabalhos sobre reciclagem de nutrientes. Destaca-se também, a possibilidade de diminuição do emprego de fertilizantes fosfatados e, consequentemente aumento da sustentabilidade ambiental nos sistemas agrícolas. Possíveis perante o refinamento em técnicas de exploração das associações entre plantas e microrganismos do solo.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo