

DANIELLA MÔNICA GOUVÊA DE SOUZA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL ENRIQUECIDO COM FÓSFORO
NA RIZOSFERA DE QUATRO ESPÉCIES LEGUMINOSAS LENHOSAS DE
CRESCIMENTO RÁPIDO**

BELÉM-PARÁ

2005

DANIELLA MÔNICA GOUVÊA DE SOUZA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL ENRIQUECIDO COM FÓSFORO
NA RIZOSFERA DE QUATRO ESPÉCIES LEGUMINOSAS LENHOSAS DE
CRESCIMENTO RÁPIDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Florestais, área de concentração Silvicultura, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Cláudio José Reis de Carvalho

BELÉM-PARÁ

2005

DANIELLA MÔNICA GOUVÊA DE SOUZA

**EFEITO DA APLICAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL ENRIQUECIDO COM FÓSFORO
NA RIZOSFERA DE QUATRO ESPÉCIES LEGUMINOSAS LENHOSAS DE
CRESCIMENTO RÁPIDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Florestais, área de concentração Silvicultura, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Cláudio José Reis de Carvalho

Aprovado em agosto de 2005

BANCA EXAMINADORA

Dr. Claudio José Reis de Carvalho
Orientador
Embrapa Amazônia Oriental

Dra. Maria do Socorro Andrade Kato
Embrapa Amazônia Oriental

Dr. Osvaldo Ryohei Kato
Embrapa Amazônia Oriental

Profª Dra. Izildinha de Souza Miranda
Universidade Federal Rural da Amazônia

“Você não sabe o quanto caminhei
pra chegar até aqui.
Percorri milhas e milhas antes de dormir,
eu não cochilei.
Os mais belos montes escalei,
nas noites escuras de frio, chorei.
A vida ensina e o tempo traz o tom
pra nascer uma canção.
Com a fé no dia-a-dia encontro à solução.
...Meu caminho só meu Pai pode mudar!”

(“A Estrada” _ Cidade Negra)

Á Deus que, incomparável e inconfundível, na sua infinita bondade, compreendeu meus anseios e me deu a necessária coragem e condições para atingir meus objetivos.

OFEREÇO

Aos meus pais, Jorge Daniel e Mônica, agradeço pela vida, pelo zelo, pela educação, pelo respeito, pela estabilidade do lar, pelos sacrifícios que nunca mediram por mim e pelas incontáveis oportunidades que me deram de ser feliz. A vocês, que sempre fizeram muito mais do que estava ao alcance, minha gratidão e amor.

Á Carolina, minha irmã, minha segunda mãe, minha amiga, e ao Daniel, meu irmão, meu amigo, meu protetor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Embrapa Amazônia Oriental, pela oportunidade concedida da utilização de sua infra-estrutura de laboratórios, casa de vegetação e biblioteca, além do aprimoramento profissional e pelo apoio técnico e instrumental.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

O Dr. Cláudio, meu orientador, tenho muito a agradecer... Por ser sempre tão gentil e grande incentivador. Pela capacidade intelectual e científica que mostra inúmeras possibilidades e interpretações para uma mesma questão, tão incomuns hoje, nos dias do “copia e cola”. Por fazer pesquisa com amor, dedicação, apreço e sempre com vontade de aprender, além do bom humor, que é fundamental para o ambiente de trabalho.

A UFRA, mas no meu coração FCAP, que me acolheu durante todos esses anos, que me proporcionou ensino público com qualidade, condição sem a qual eu jamais poderia ter frequentado um curso superior e a pós-graduação. Obrigada pelas diversas oportunidades e acredito que soube aproveitar a maioria delas transformando a estudante que era a profissional que sou.

A minha avó Lina por encontrar em sua casa o meu segundo lar. A tia Nazaré e a Marina pelo amor, carinho, apoio, atenção, e por sempre acreditarem em minha capacidade. A Lina, minha prima, que com seu coração doce sempre me incentivou em tudo. A Lariza, minha prima, por não deixar morrer a adolescência em mim.

Ao Funcionário Ivanildo Trindade, por ter me ajudado com seu bom humor e paciência em todas as fases práticas deste trabalho.

O Carlos Alberto Nogueira e a Elaine Cristina Pacheco, pela ajuda durante os créditos, pelas discussões durante intermináveis trabalhos, pela ajuda mútua, pelo apoio em tudo e amizade. Ao Márcio Cruz, pela nossa amizade e admiração que só se consolidaram ao longo destes anos em que crescemos juntos desde o início da graduação até o mestrado.

Aos professores da pós-graduação pelos ensinamentos. Em especial, a prof.^a Izildinha Miranda, por ser um espelho de profissionalismo, ética, pesquisa, perseverança e determinação.

A Danielle Fontenelle, minha prima, pelo incentivo nas várias fases da minha vida e pelo carinho incondicional.

A Célia Valero, pelo interesse, paciência e apoio quando eu realmente me dediquei à dissertação.

A equipe do laboratório de Ecofisiologia Vegetal: Renatinha (Roberta Coelho), ao Fabinho (Fábio Dutra), ao Bruninho (Bruno Serrão) e à Alê (Alessandra Cavalcante), pessoas as quais sempre tinham uma palavra de incentivo, além da ajuda durante a etapa do laboratório. Ao Ton (Ewerton Cunha), a Taninha (Tânia Leite), a Tê (Tereza Primo), a Livia Vasconcelos pelas trocas de figurinhas. Ao Ronaldinho (Ronaldo Oliveira), ao Tenilson, ao Robson Canuto, ao Cleo Marcelo pelas dicas no laboratório. A Neize Miranda, a Fabiola Fernandes, a Paulinha (Ana Paula), a Sanzinha (Sanae Hayashi), pelas conversas e pela força. A Eneida Oliveira, minha colega de mestrado, que apesar de estarmos no mesmo barco, nunca competimos e sempre nos ajudamos. A todos que na hora do improviso ajudaram, de coração, o meu trabalho. Além, é claro, pelas conversas, pelas brincadeiras, pelos almoços e muitas outras histórias.

A Shirley e a Renata, secretárias da pós-graduação, por sempre estarem disponíveis a me ajudar durante toda essa caminhada.

A minha torcida organizada, meus i-nes-que-cí-veis amigos, Benjamim Júnior, Helena Kazuko, Alessandra Rodrigues, Márcia Aviz, Alexandre Cohen, Wilson Barbosa, ao Sandro Villacorta, Ronaldo Lemos, Ana Paula, Emerson Soares por nunca esquecerem de mim, por entenderem minha ausência nas viagens, estudo, horas sem fim no laboratório e quando escrevia, por estarem presentes em cada realização minha.

Agradecer todo mundo, tarefa difícil, muita coisa acontece, muita gente acaba se envolvendo no processo, que é o processo de uma vida, Então caso eu tenha esquecido de alguém, me perdoe, mas aqui está registrado o meu muito obrigada de coração.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL	
1.1	RESUMO GERAL..... 15
	ABSTRACT..... 15
1.2	REFERENCIAL TEÓRICO..... 16
1.3	MATERIAL E MÉTODOS..... 19
1.3.1	Material Vegetal..... 19
1.3.2	Início do experimento..... 19
1.4	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA..... 21
CAPÍTULO 2: RESPOSTAS BIOLÓGICAS DO SOLO NAS RIZOSFERAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES À ADIÇÃO DE EXTRATO VEGETAL ENRIQUECIDO COM FÓSFORO MINERAL	
2.1	RESUMO..... 23
	ABSTRACT..... 23
2.2	INTRODUÇÃO..... 24
2.3	MATERIAL E MÉTODOS..... 26
2.3.1	Análise de solos do vaso..... 26
2.3.1.1	Carbono total e nitrogênio total..... 26
2.3.1.2	Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana..... 26
2.3.1.3	pH..... 27
2.3.1.4	Mineralização do nitrogênio..... 27
2.3.1.5	Atividades enzimáticas..... 28
2.3.1.6	Determinação do fósforo disponível, total e orgânico..... 28
2.3.1.7	Análises estatísticas..... 29
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 29
2.5	CONCLUSÕES PARCIAIS..... 36
2.6	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA..... 37
CAPÍTULO 3: EFEITO DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO E FÓSFORO SOBRE O CRESCIMENTO E A ABSORÇÃO DE NUTRIENTES	
3.1	RESUMO..... 42
	ABSTRACT..... 42
3.2	INTRODUÇÃO..... 43
3.3	MATERIAL E MÉTODOS..... 44
3.3.1	Contagem de esporos de fungos micorrízicos do solo..... 44
3.3.2	Contagem do número das infecções micorrízicas das raízes..... 44
3.3.3	Avaliação do número de infecções micorrízicas nas raízes..... 44
3.3.4	Coleta de seiva, teor de nitrogênio e fósforo e cálculo do fluxo de seiva..... 45
3.3.4.1	Coleta de seiva..... 45
3.3.4.2	Teor de nitrogênio e fósforo na seiva bruta..... 45
3.3.4.3	Fluxo de seiva..... 45
3.3.5	Taxa de crescimento absoluto e determinação de N e P nos tecidos foliares... 46
3.3.5.1	TCA..... 46
3.3.5.2	Teor de fósforo e nitrogênio dos tecidos foliares..... 47
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 47
3.5	CONCLUSÕES PARCIAIS..... 50

3.6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
3.7	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 01:	Composição das soluções adicionadas nos vasos de quatro espécies estudadas. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-Pa.....	20
Tabela 02:	Carbono e nitrogênio total, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, relação C/N e matéria orgânica do solo. Laboratório de Ecofisiologia. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.....	30
Tabela 03:	Médias de pH e médias das concentrações de fósforo total, orgânico e disponível do solo. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.....	32
Tabela 04:	Esporos micorrízicos, infecções micorrízicas e nodulações no solo da rizosfera e nas raízes de quatro leguminosas tratadas com extratos vegetais enriquecidos com fosfato inorgânico. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.....	48
Tabela 05:	Fluxos de fósforo e nitrogênio e concentrações foliares de fósforo e nitrogênio. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Taxas de mineralização líquida do N no solo dos vasos cultivados com quatro espécies de leguminosas, 45 dias após a aplicação de macerado de folhas enriquecidos com P. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.....	33
Figura 02:	Atividade de fosfatase ácida no solo das rizosferas das diferentes espécies de leguminosas. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005	35
Figura 03:	Atividade de uréase no solo das rizosferas das diferentes espécies de leguminosas. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SHIFT-Capoeira: Estudo de Impactos Humanos em Florestas e Áreas Alagáveis
LBA Milênio: Experimento de Grande Escala da Biosfera-Atmosfera na Amazônia
ppm : Parte por milhão
g: grama
cm: centímetro
mm: milímetro
Mg.ha⁻¹: Megagrama por hectare
mL: mililitro
mL/L: mililitro por litro
rpm: rotações por minuto
°C: grau Celcius
M: Molar
K_{ec}: Coeficiente de eficiência de extração do carbono
K_{en}: Coeficiente de eficiência de extração de nitrogênio
ΔT: Duração da incubação em dias
pH: potencial de hidrogênio iônico
Relação C/N: Relação carbono nitrogênio
MOS: Matéria orgânica do solo
TCA: Taxa de crescimento
Φ: Fluxo de seiva
C : Carbono
C_{total}: Carbono total
C_{BM}: Carbono da biomassa
N : Nitrogênio
N_{total}: Nitrogênio total
P : Fósforo
P_{orgânico}: Fósforo orgânico
P_{disponível}: Fósforo disponível
P_{total}: Fósforo total
N_{BM}: Nitrogênio da Biomassa
NO_x : Nitratos (???)
NH₄⁺: Amônio
NH₃: Amônia
NO₃⁻: Nitrato
Ca⁺⁺: Cátions de cálcio
Fe: Ferro
K₂PO₄ : Fosfato de potássio bibásico
KCl: Colreto de potássio
H₂SO₄: Ácido Sulfúrico
H₂O₂: Peróxido de hidrogênio
NaOH: Hidróxido de sódio
H₂O: água
CO₂: gás carbônico
KOH: Hidróxido de potássio

FAA: Formoladeido, Ácido Acético e Álcool

PA: Pará

ES: Espírito Santo

MT: Mato Grosso

AM: Amazonas

TR: Tratamento

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL

1.1 RESUMO GERAL

A agricultura de derruba e queima há muito praticada no nordeste paraense, tende a gerar poucos ganhos nos cultivos sucessivos, e, portanto uma melhoria está sendo procurada em sistemas alternativos de corte e trituração associados ao plantio de leguminosas de crescimento rápido para acelerar a acumulação de biomassa e reduzir o tempo de pousio. Os estudos feitos sobre o sistema de corte e trituração, como os desenvolvidos nos projetos SHIFT-Capoeira, Tipitamba e LBA Milênio, mostram que a trituração do material lenhoso e não lenhoso trás vantagens nos processos de ciclagem e conservação dos nutrientes, além da intensificação das reações na interface solo-planta, promovidas pela disponibilidade de carbono e nutrientes através da lixiviação do material triturado. O objetivo geral do trabalho foi o de avaliar os efeitos e interações solo-planta nas rizosferas das quatro espécies (tachi, paricá, palheteira, ingá) submetidas à adição de extratos vegetais em um ambiente restrito que simulassem seu plantio em uma área preparada com o sistema de corte e trituração. O experimento foi executado em casa de vegetação da Embrapa Amazônia Oriental, onde plantas jovens destas espécies cultivadas em vasos, foram submetidas a 5 tratamentos (água, extrato vegetal, 100ppm de K_2PO_4 + extrato vegetal, 150ppm de K_2PO_4 + extrato vegetal, 200ppm de K_2PO_4 + extrato vegetal). Aos 45 dias após a implantação dos tratamentos, foram coletadas amostras de solo da rizosfera e das plantas, e avaliados diferentes aspectos relacionados com a ciclagem de C, N e P e os teores de nutrientes das folhas e na seiva bruta das plantas. De modo geral, os resultados indicaram que a adição dos extratos vegetais pode causar modificações nas atividades biológicas no solo e que este efeito é influenciado pela rizosfera das diferentes espécies.

Palavras-chave: *Clitoria racemosa* Benth, *Inga cinammonum*, *Sclerobuim paniculatum*, *Schizolobium amazonicum*, simulação de corte e trituração, casa de vegetação.

ABSTRACT

The slash and burn shifting cultivation has been practiced in paraense northeast, and the next crops lose their capacity of develop, hence in associations with alternative systems of slash and mulch and legumes with fast growth are getting better results and accelerate the fallow. SHIFT-Capoeira, Tipitamba and LBA Milênio make researches about slash and mulch systems, those shows that mulching the woody and non-woody materials got advantage in nutrient cycling and conservation, in addition carbon availability and leaching nutrients from mulch, intensification the reactions in soil-plant interface. The main objective was evaluated the effects of soil-plant interactions in rizosphere of four species (tachi, paricá, palheteira, ingá), that were submitted to vegetal extract in a restrict place, that simulated a real planting in a slash and mulch area. In a greenhouse, at Embrapa Amazônia Oriental, the young plants were cultivated in pots were 5 treatment (water, vegetal extract, 100ppm of K_2PO_4 + vegetal extract, 150ppm of K_2PO_4 + vegetal extract, 200ppm of K_2PO_4 + vegetal extract) were applicated. After 45 days that the

treatments began, were collected samples from rizosphere soil and from the plants, and study the different aspects related to C, N and P cycling, and the nutrient concentration in leaves and in plant-sap. In general, vegetal extract addition can modify the biological activity in soil, and these effects were influence by the rizospheres of the different species.

Key-words: *Clitoria racemosa* Benth, *I. cinammonum*, *Sclerobuim paniculatum*, *Schizolobium amazonicum*, slash and mulch simulation, greenhouse.

1.2 REFERENCIAL TEÓRICO

A agricultura de derruba e queima, praticada há mais de 100 anos no nordeste paraense, apresenta sua sustentabilidade comprometida, como resultado da baixa fertilidade do solo, associada às perdas de nutrientes durante a queima no processo tradicional de preparo de área e a redução do período de pousio da terra (Kato et al., 2002). Entretanto, bons resultados têm sido obtidos da utilização de sistemas alternativos como corte e trituração, cultivos adubados, pousio melhorado/acelerado com plantio de leguminosas arbóreas de rápido crescimento, que é uma forma de preparo melhorada para agricultura de pequeno porte na Amazônia Oriental. Portanto o manejo da vegetação em pousio e a preparação da área sem uso de fogo são promissores como alternativas sustentáveis para agricultura. Vielhauer et al. (1998) comenta que o sistema de corte e trituração tem as vantagens de poder ser implantado em qualquer época do ano, e conservar a maioria dos nutrientes na área com respostas positivas a fertilidade do solo.

Com a trituração há a formação de uma camada de detritos provenientes da matéria orgânica, de tecidos lenhosos (tronco, ramos) e não lenhosos (folhas verdes, senescentes e serapilheiras, frutos, sementes, cascas). Neste material, que age como cobertura morta do solo, ocorre uma parte do processo de mineralização através da atividade biológica de macro e microorganismos do solo, e de reações na interface solo-planta, sendo fundamental para os processos de ciclagem e conservação dos nutrientes.

Teoricamente, a trituração resultaria na rápida liberação dos nutrientes minerais acumulados da parte aérea da vegetação secundária (Kato et al. 1999), tornando-se assim um fator importante, pois a maioria dos solos amazônicos são pobres em nutrientes disponíveis para as plantas limitando o desenvolvimento destas. Porém, constata-se na pratica, que a liberação simultânea dos compostos orgânicos, tais como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, polifenóis etc., estimula o desenvolvimento da atividade macro, meso e microbiana do solo, o que pode

complexar esses nutrientes (principalmente o nitrogênio e o fósforo) em novos reservatórios (pools) orgânicos. Portanto, existe a necessidade de uma adubação química mínima inicial para o sucesso do primeiro cultivo, para posteriormente acontecer a mineralização dos nutrientes a partir desses reservatórios orgânicos, o que poderá suprir as necessidades de um segundo cultivo, caso as plantas cultivadas, de pousio e os macro e microorganismos do solo a elas associadas e/ou estimulados pela sua presença, possuam estratégias de exploração dos mesmos.

Ao longo da evolução, as plantas têm desenvolvido diversas estratégias para obtenção de nutrientes do solo, seja através de interações simbióticas com bactérias e fungos, seja na exsudação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, prótons e enzimas (Marschner, 1996, Lamber et al., 1992). Nos oxissolos da Amazônia os macronutrientes mais limitantes para o desenvolvimento da vegetação secundária são o fósforo e o nitrogênio (Davidson et al., 2004).

Mesmo nos sistemas sem uso de queima da vegetação, pode haver perdas de nitrogênio através da lixiviação, percolação e perda na forma de gases do complexo NO_x . Com relação ao fósforo, o principal fator de perda seria sua complexação com óxidos de ferro, cálcio e alumínio, comuns na maioria dos solos da Amazônia e sua imobilização na matéria orgânica. Por isso, a escolha de espécies que tenham estratégias de fixação/aquisição de nutrientes, além da capacidade de disponibiliza-los para os demais componentes de uma plantação após o pousio, é de grande importância para o sucesso deste sistema alternativo.

No presente trabalho, foram selecionadas quatro espécies de leguminosas arbóreas. Essas espécies descritas a seguir foram selecionadas com base nos critérios de disponibilidade de sementes, sucesso na revegetação de áreas pobres em nutrientes e altas taxas de crescimento.

A *Clitoria racemosa* Benth. conhecida vulgarmente como palheteira, palheitera, sombreiro e outros pertence à família Leguminosae-Papilionoideae. Tem como características frutos vagens achatadas, folhas compostas trifolioladas. A árvore tem altura de 6-12m e apresenta características ornamentais. Vem sendo utilizada na arborização urbana e rural, nas regiões norte e sudeste do país, pois é uma planta de rápido crescimento e ultimamente vem sendo utilizada nos reflorestamentos heterogêneos destinados à reconstituição da vegetação de áreas degradadas de preservação permanente. A palheteira tem ocorrência no Amazonas, Pará, Maranhão e Tocantins, ou seja, na floresta pluvial amazônica de terra firme. (Lorenzi, 2002a).

O ingá, *Inga fagifolia* var. *belemmensis* Ducke, ou *I. cinammonum* pertence à família Leguminosae-Mimosoideae, e nomes vulgares ingá-chichica, ingá-chinelo, ingá-de-macaco (PA),

ingá-da-praia (ES), ingá-mirim (MT), ingaí (AM). É uma árvore de copa frondosa que possui ampla distribuição no país, ocorrendo desde Amazônia até o nordeste e daí para o sul até o Paraná, em quase todas as formações vegetais, e nos demais países da América Latina, Central e Caribe. O ingá tem altura de 10-20m dotada de copa ampla e baixa, folhas compostas paripinadas, fruto legume chato, levemente curvo, comestíveis e muito apreciados pela fauna (Lorenzi, 2002b).

O *Sclerobium paniculatum* var. *rubiginasum* (Mart. Ex Tul.) Benth pertence à família Leguminosae- Caesalpinioideae. É conhecido vulgarmente como tachizeiro, tachi e tachi-branco. O tachi ocorre na região amazônica até o oeste da Bahia, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. O tachi é uma árvore rústica e de rápido crescimento e que é recomendada para reflorestamento heterogêneo destinados a áreas degradadas. Altura de 5-10m, dotada de copa arredondada e mais ou menos densa, tronco geralmente tortuoso e mais ou menos cilíndrico. A madeira é empregada para lenha e carvão de grande poder calorífico, bem como para carpintaria e para obras externas (moirões, dormentes, estacas, etc.) (Lorenzi, 2002b).

O *Schizolobium amazonicum* Huber Ex Ducke, Leguminosae- Caesalpinioideae, é vulgarmente conhecido como paricá, pinho-cuiabano, faveira e outros (Vidal e Vidal, 2000). É uma árvore de grande porte podendo alcançar até 30m de altura e vem sendo largamente utilizada em plantios de reflorestamento devido aos atributos tecnológicos de sua madeira que é destinada à fabricação de forros, palitos, fósforos, papel, compensados, pasta de celulose e laminados (Melo et al., 1983). Ocorre em toda Amazônia brasileira, no Peru e na Colômbia (Medina, 1996).

O objetivo geral foi o de avaliar os efeitos e interações solo-planta nas rizosferas das quatro espécies descritas, submetidas em um ambiente restrito (vasos) a condições que simulassem seu plantio em uma área preparada com o sistema de corte e trituração, através da adição de uma suspensão de material de folhas das espécies mais comuns na vegetação secundária do nordeste paraense.

1.3 MATERIAIS E MÉTODOS

1.3.1 Material vegetal

Para a implantação do experimento, foram utilizadas plantas provenientes de sementes. As plantas de ingá foram provenientes do município de Outeiro, Pará. As plantas de palheteira eram do município de Belém, Pará. As de tachi foram cedidas pelo Laboratório de Sementes Florestais e de paricá pelo Laboratório de Ecofisiologia e Propagação de Plantas, ambos da Embrapa Amazônia Oriental.

As sementes de ingá e palheteira estavam em plena maturação. Para que houvesse a germinação nas espécies paricá e tachi foi necessário fazer uma quebra de dormência nas sementes utilizando o método de escarificação. As sementes das quatro espécies foram inicialmente plantadas em bandejas com areia lavada.

Após a germinação, as plantas foram transplantadas para vasos de plástico de 12 litros de capacidade. Cada vaso continha aproximadamente 10 kg de substrato, o qual era constituído de terriço de vegetação secundária (horizonte A) e areia branca na proporção de 3:1 e peneirada em malha de 2mm. A superfície do substrato apresentou um diâmetro médio de 25 cm, o que equivale a uma área de 490,9 cm², a qual foi usada para fins de cálculos.

1.3.2 Início do experimento

O extrato vegetal foi preparado em laboratório através da maceração em água de folhas verdes das espécies comuns na vegetação secundária, que foram a *Vismia guianensis*, *Lacistema pubescens*, *Banara* sp., *Cecropia* sp. e *Davila rugosa*, espécies citadas por Manfred (1991) com um significativo teor de macronutrientes nas folhas, logo folhas verdes e senescentes foram escolhidas por serem órgãos mais ricos em nutrientes minerais e orgânicos, e representarem um volume apreciável quando adicionadas ao solo na operação de trituração. Para efeito de cálculo, no presente trabalho assume-se os resultados de um levantamento de biomassa, feito por ocasião da primeira trituração no projeto Milênio LBA, em execução na Fazenda Experimental da UFRA, os quais mostram que uma capoeira de 20 anos de idade pode produzir até 100 Mg.ha⁻¹ de biomassa total, das quais 9% são constituídos de folhas e 1% de serrapilheira fina (Sá et al.,

2004) Para o cálculo, foi considerada a área superficial de solo no vaso (aproximadamente 490cm^2). Foi preparado um volume total de macerado de 40 litros, o qual foi dividido e utilizado segundo o descrito na tabela 1. As quantidades de fosfato de potássio bibásico (K_2HPO_4) utilizadas, foram inicialmente dissolvidas em uma pequena quantidade de água e posteriormente adicionadas.

Após a queda dos cotilédones em todos os indivíduos das 4 espécies, foram adicionados 500ml de extrato vegetal enriquecido ou não com K_2PO_4 de acordo com o tratamento. Esta quantidade de extrato equivale à deposição de 50g de folhas maceradas por vaso.

Tabela 01: Composição das soluções adicionadas nos vasos das quatro espécies estudadas. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pa.

Tratamentos	Composição	Quantidade total
Tratamento 0	Água	10 litros
Tratamento 1	Extrato vegetal	10 litros
Tratamento 2	Extrato vegetal + 100 ppm K_2HPO_4	100 ppm de P (K_2HPO_4) diluídos em 10 litros de extrato vegetal.
Tratamento 3	Extrato vegetal + 150 ppm K_2HPO_4	150 ppm de P (K_2HPO_4) diluídos em 10 litros de extrato vegetal.
Tratamento 4	Extrato vegetal + 200 ppm K_2HPO_4	200 ppm de P (K_2HPO_4) diluídos em 10 litros de extrato vegetal.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação em um esquema de blocos ao acaso e analisado segundo um delineamento fatorial onde foram comparadas 4 espécies, cinco tratamentos de rizosfera e quatro repetições.

Até o final do experimento, as plantas foram irrigadas a cada 2 dias com 500 ml de água e foram feitas 4 pulverizações com o inseticida Decis 25CE na quantidade de 0,1mL/L

Aos 45 dias após a adubação, o experimento foi encerrado e as partes aéreas das plantas foram cortadas 1cm acima da marca do cotilédone. Estas partes dos vegetais (caule e folhas) foram usadas para análise. Nas partes cortadas que ficaram nos vasos, foram colocados cápsulas de coleta de seiva durante 24 horas. As raízes foram separadas do solo e lavadas, sendo também coletadas amostras de solo dos vasos.

1.4 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

DAVIDSON, E.A.; CARVALHO, C.J.R. de; VIEIRA, I.C.G.; FIGUEIREDO, R.de O. F.; MOUTINHO, P.; ISHIDA, F.Y.; SANTOS, M.T.P.dos; GUERRERO, J.B.; KALIF, K.; SABÁ, R.T. Nitrogen and phosphorus limitation of biomass growth in a tropical secondary forest. **Ecological Applications**, 14(4), supplement, p.150-163, 2004.

KATO, M.S.A.; KATO, O.R.; DENICH, M.; VLEK, P.L.G. Fire-free alternatives to slash-and-burn for shifting cultivation in the east Amazon region: The role of fertilizers. **Field Crop Research**, n.62, p.225-237, 1999.

KATO, O.R.; KATO, M. do S. A.; JESUS, C.C. de; RENDEIRO, A.C. Época de preparo de área e plantio de milho no sistema de corte e trituração no município de Igarapé-Açu, Pará. **In: Comunicado Técnico-Embrapa**, n 64, 3p., mar 2002.

LAMBER, H.; POORTER, H. **Inherent variations in growth rate between higher plants: a search for fisiological causes and ecological consequences**. Advances in Ecological Research. London, v.23, p.188-261, 1992.

^aLORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. vol 01. São Paulo: Nova Odessa. 4ªed., 2002. p.212.

^bLORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. vol 02. São Paulo: Nova Odessa. 4ªed., 2002. p.169-185.

DENICH, M. **Importância de uma vegetação secundária nova para o incremento da produtividade do sistema de produção na Amazônia Oriental brasileira**. Deutsche Gesellschaft Für Technische Zusammenarbeit (GTZ). Universidade George de Göttingen, Republica Federal da Alemanha, Eschborn. 1991, 284p.

MARSCHNER, H.; KIRKBY, E.A.; CAKMAK, I. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. **Journal of Experimental Botany**. Oxford, v.47, p. 1255-1263, 1996. Special Issue.

MEDINA, J.C.; **Flora do brasil: dicotiledôneas arbóreas úteis**. [s.l.]: [s.n.], 1996.

MELO, J.E. de; CARVALHO, G.M. de; MARTINS, V. A. **Espécies madeireiras substitutas do mogno (*Swietenia macrophylla* King.)**. Brasília: IBAMA, 1983. 16p. (Série Técnica)

VIDAL, W.N.; VIDAL, M.R.R. **Taxonomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2000. 89p. (Cadernos Didáticos, 57)

VIELHAUER, K.; SÁ, T.D. de A.; KANASHIRO, M.; DENICH, M. Technology development of slash-and-mulch and of fallow enrichment in shifting cultivation systems of the eastern amazon. In: Shift-Workshop, 3, 1998, Manaus. **Proceedings...** Amazonas. 1998. p.49-59.

SÁ, T. D.; CARVALHO, C.J.R. **Segmento da Embrapa Amazônia Oriental - LBA MILÊNIO**. Belém: EMBRAPA-LBA, 2004. 35p. (Relatório de Projeto em andamento)

CAPITULO 2: RESPOSTAS BIOLÓGICAS DO SOLO NAS RIZOSFERAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES À ADIÇÃO DE EXTRATO VEGETAL ENRIQUECIDO COM FÓSFORO MINERAL

2.1 RESUMO

A associação de várias espécies dentro de uma mesma área eleva a diversidade do ecossistema e da biota do solo. Os detritos vegetais constituem a principal via de conservação e ciclagem de nutrientes, e se aplicam muito bem nos solos amazônicos que são altamente intemperizados e pobres de nutrientes disponíveis. A disponibilização de substratos carbonados e nitrogenados contidos nos macerados vegetais resultantes dos processos de trituração podem alterar a dinâmica das populações de microorganismos do solo, levando a surtos de crescimento com conseqüente imobilização transitória de carbono, nitrogênio e fósforo na biomassa microbiana do solo. A adição de árvores leguminosas, que através da fixação simbiótica de nitrogênio, podem ter um impacto significativo na biota do solo, através de substâncias excretadas para a rizosfera. A adição de fósforo inorgânico através de adubos de alta solubilidade, leva a uma alta absorção imediata por parte das plantas superiores com efeitos também nos microorganismos da rizosfera. No solo da rizosfera foram feitas análises de carbono e nitrogênio total, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, atividades das enzimas urease e fosfatase ácida, fósforo disponível, total e orgânico, foi determinado o pH e calculado o potencial de mineralização do nitrogênio. As análises estatísticas mostraram que a adição do extrato vegetal não alterou significativamente o C_{total} , N_{total} e a relação C/N do solo nos tratamentos e nas diferentes espécies. Houve diferença significativa entre os tratamentos por espécie no potencial de mineralização, com as espécies tachi e palheteira tendendo ao mesmo de comportamento. As atividades de urease e fosfatase ácida na rizosfera de tachi, paricá, palheteira tiveram o mesmo comportamento. As análises de P do solo mostraram uma grande quantidade de $P_{orgânico}$, como resultado da aplicação do extrato vegetal e as concentrações de $P_{disponível}$ se comportaram de acordo a crescente concentração de fósforo mineral presente nos tratamentos.

Palavras-chave: Potencial de mineralização do nitrogênio, atividade enzimática, fósforo disponível, extrato vegetal, fósforo inorgânico.

ABSTRACT

Association many species inside the same area got higher the ecosystem diversity and soil biota. The mulching vegetation is the main way of conservation and cycling nutrients in Amazonia where the soils are higher weathed and poor of available nutrients. The availability of carbonates and nitrogenates substrate that contain in lacerate plant resultant of slash process, the soil microorganism population dynamic can grow quickly, and consequently transitory carbon, nitrogen and phosphorus immobilization in soil microbial biomass. Planting legumes trees that have a biological nitrogen fixation, excrete substances in rizosphere have a significative impact in soil biota. Inorganic phosphorus has higher solubility and immediate absorvation by the superior

plants with microorganism in rizosphere. At soil samples were analyzed carbon and nitrogen total, carbon and nitrogen soil microbial biomass, enzymatic activity like urease and acid phosphatase, label, total and organic phosphorus, were determined pH, and calculated the net nitrogen mineralization. The statistical analyses shows that vegetal extract didn't change significantly the C_{total} , N_{total} and C/N relationship at soil in any treatment of a different species. A significant difference between treatment in each species at net nitrogen mineralization, tachi and clitoria tend at same compartment. In rizosphere, the activity of urease and acid phosphatase atn tachi, paricá, clitoria have the same compartment. In soil, the P analyses show a higher quantity of organic P as a result of vegetal extract application, and the label P concentration grow at the same concentration of mineral P at treatment.

Key-words: net N mineralization, P availability, enzymatic activity, vegetal extract, inorganic P.

2.2 INTRODUÇÃO

Na Amazônia as leguminosas são introduzidas como componentes em vários sistemas agrícolas. As leguminosas trazem ganhos econômicos, como a madeira, lenha, frutas e outras, além de ganhos ecológicos, como os decorrentes da fixação simbiótica de nitrogênio, ciclagem de nutrientes e outros. A consorciação de várias espécies dentro da mesma área eleva a diversidade do ecossistema, além de serem as interações benéficas entre as plantas de diferentes ciclos, portes e funções (Sanchez et al., 1995). A associação de plantas, também leva a maior diversidade de interações com a biota do solo, através do fornecimento de carbono e nitrogênio por meio da deposição de detritos e secreções radiculares (ácidos orgânicos, aminoácidos, açúcares, aldeídos, polifenóis), as quais podem tanto inibir como também estimular a ocorrência e a dinâmica de populações de determinados organismos (Larcher, 2000) com reflexo na velocidade de decomposição e mineralização da serapilheira e da matéria orgânica (Teixeira et al., 2001).

Devido a sua grande massa, os detritos vegetais constituem a principal via de conservação e ciclagem de nutrientes, principalmente em solos altamente intemperizados e pobres de nutrientes disponíveis como da região amazônica. A sua decomposição, pressupõe a sua fragmentação física inicial, feita pela macro e meso fauna seguida pelo ataque de microorganismos do solo e plantas, os quais agem através de enzimas secretadas. Entre as diversas enzimas produzidas no solo, as principais são a urease e as fosfatases, principalmente a fosfatase ácida, que tem um papel chave na estratégia de mineralização do P (He et al., 2004, Grierson, 2000, Smith, 2002). Essas enzimas liberam e ciclam o nitrogênio e fósforo, pois executam os passos iniciais do desdobramento desses nutrientes a partir dos reservatórios orgânicos (Szott, 2001).

Embora seja uma enzima mais comum nos animais, a urease pode ser encontrada em vegetais superiores e inferiores (Malavolta, 1989). No solo, esta enzima atua principalmente na hidrólise da uréia proveniente das excreções da fauna liberando amônia (NH_3), que pode ser perdida para o ambiente ou transformada em amônio (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) por outros complexos enzimáticos e microorganismos em um processo conhecido como mineralização do nitrogênio (Khanna, 1998, Malavolta, 1998).

As fosfatases pertencem a uma família de enzimas amplamente difundida no reino animal e vegetal, cuja atuação se dá no desligamento de radicais fosfatados presos a moléculas orgânicas formando ésteres (Ryan et al., 2001, Grierson, 2000). No reino vegetal, estas enzimas são encontradas tanto em vegetais superiores como nos inferiores, podendo ser distinguidos em dois grupos de atuação em meios de acidez distintas, conhecidas como fosfatases ácidas ou alcalinas (Grierson, 2000). A produção dessas enzimas pode ser estimulada ou reprimida em certas condições e, tanto nas raízes de plantas superiores, como em microrganismos (Smith, 2001). Em geral, a falta de fósforo estimula a produção e excreção destas ectoenzimas para a rizosfera próxima para que atuem no reservatório de fósforo orgânico, resultando assim em um importante mecanismo de adaptação de plantas a condições de baixos níveis de fósforos disponível (Ryan et al., 2001), pois normalmente as plantas mais tolerantes a esta situação, respondem com a excreção de maior quantidade de enzimas e, por conseguinte com maior atividade (Khanna, 1998). Condições que reduzam a disponibilidade de fósforo no solo, como pH ácido e altos níveis de alumínio, também estimulam a produção dessas ectoenzimas e, no caso de solos ácidos, o principal grupo estimulado é o das fosfatases ácidas (Jiménez et al., 2003).

A adição de fósforo inorgânico através de adubos fosfatados de alta solubilidade, leva a uma alta absorção imediata por parte das plantas superiores, podendo também ser lixiviado (Szott, 2001), utilizado pelos microorganismos do solo, adsorvido na matéria orgânica e superfícies reativas e complexado com Ca^{++} e com Fe principalmente (Kamprath, 1977, Ryan et al., 2001, Szott et al., 2001). A disponibilização de substratos carbonados e nitrogenados contidos no macerado de folhas, produtos de fermentação e lixiviados da camada de detritos vegetais resultantes do processo de trituração podem alterar a dinâmica das populações de microorganismos do solo, levando a surtos de crescimento com conseqüente imobilização transitória de carbono, nitrogênio e fósforo em suas estruturas, denominadas coletivamente como biomassa microbiana do solo (Brookes et al., 1982, Hedley, 1982). Este quadro torna-se mais

complexo ainda quando se adicionam árvores leguminosas, as quais através da fixação simbiótica do nitrogênio, podem ter um impacto significativo na biota do solo, através de substâncias excretadas para a rizosfera próxima.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar respostas biológicas do solo nas rizosferas de quatro diferentes leguminosas com grande potencial para associação tipo alley cropping e pousio melhorado, a adição de um extrato vegetal enriquecido com fósforo solúvel, com vistas a simular, em ambiente restrito e artificial o impacto decorrente a adição da camada de detritos vegetais resultante do processo de trituração da biomassa para substituir a queima da vegetação para o preparo de áreas de cultivo.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi encerrado aos 45 dias após a aplicação dos tratamentos. O solo coletado foi imediatamente acondicionado em refrigerador (aprox. +4°C) no laboratório de Ecofisiologia e Propagação de Plantas da Embrapa Amazônia Oriental, onde foram desenvolvidas todas as atividades laboratoriais deste trabalho.

2.3.1 Análise de solos do vaso

2.3.1.1 Carbono total e nitrogênio total

As amostras de solo foram secas ao ar, depois foram peneiradas em malha de 2mm e subamostras de 0,100g, foram analisadas em um analisador elementar LECO CNS-2000 para determinar os teores de carbono e nitrogênio total do solo. Paralelamente, outras amostras de 1g foram pesadas, secas em estufa a 105°C, novamente pesadas para correção de umidade.

2.3.1.2 Carbono e nitrogênio da biomassa microbiana

Para a determinação do carbono e nitrogênio na biomassa microbiana do solo foram necessários 2 lotes de amostra em duplicata com aproximadamente 20g de solo. Um lote foi posto em placas de Petri e fumigados em dessecador sob vácuo em vapores de clorofórmio por 72

horas, enquanto que o outro lote foi extraído após passar 24 horas sob agitação com sulfato de potássio 0,5M e extraído com papel Whatman nº42 e os extratos congelados. Após o termino da fumigação, este lote foi extraído igual ao lote não-fumigado.

O carbono presente no extrato foi determinado em alíquotas de 5mL por reação de dicromato de potássio em meio ácido e quantificado colorimetricamente por Baker (1976), enquanto que o nitrogênio foi determinado por Kjeldahl.

Para cálculo da eficiência de extração (K_{ec}), foram usados os fatores de 0,35 para carbono e (K_{en}) de 0,18 para nitrogênio de acordo com Voroney et al. (1991).

Paralelamente outras amostras de 1g foram pesadas, secadas em estufa a 105°C, novamente pesadas para correção de umidade.

2.3.1.3 pH

O pH das amostras de solo seco ao ar foi avaliado com um eletrodo combinado, em um equipamento Tecnal – TEC-3MP em suspensão com água destilada (1:2,5) após 3 horas de equilíbrio.

2.3.1.4 Mineralização do nitrogênio

Foi utilizado o método de Hart et al. (1994) o qual se baseia na modificação relativa dos teores de NH_4^+ e NO_3^- de amostras de solo sob incubação aeróbica em laboratório.

Foram utilizadas amostras em duplicata de 20g de solo fresco e peneirado a 2mm, as quais foram colocadas em frascos de plástico de 100mL de capacidade com tampa perfurada e incubados a 30°C por 7 dias no escuro. Para determinar os teores no início da incubação, outras amostras similares foram extraídas imediatamente com uma solução de 1M de cloreto de potássio (KCl), por 2 horas e posteriormente filtradas em papel de filtro livre de cinzas e os extratos congelados até o uso. Paralelamente, outras amostras de 1g foram pesadas, secas em estufa a 105°C por 48 horas e novamente pesadas para correção da umidade nos cálculos finais.

As concentrações de amônio dos extratos foram determinadas colorimetricamente utilizando salicilato e nitroprussiato (Mulvaney, 1996). As concentrações de nitrato foram determinadas colorimetricamente através do método de Yang et al. (1998).

A mineralização foi determinada após a obtenção das concentrações de nitrato e amônio de acordo com a equação:

$$N_{\text{mineralizado}} = [(\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+)_f - (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+)_i] / \Delta T$$

onde:

f: nitrato e amônio extraídos do solo após 7 dias de incubação.

i: nitrato e amônio do solo antes da incubação.

ΔT : Duração da incubação em dias.

2.3.1.5 Atividades enzimáticas

As atividades enzimáticas foram avaliadas em solo preservado sob refrigeração. Os métodos de determinação seguidos para a atividade de fosfatase ácida foram descritos por Eivazi & Tabatabai (1977). A descrição da metodologia de determinação da urease do solo pode ser vista em Kandeler et al. (1988).

2.3.1.6 Determinação do fósforo disponível, total e orgânico

Os teores de fósforo disponível foram avaliados após extração com extrator de Mehlich-I (1:10) usando amostras em duplicata de aproximadamente 2g de solo seco ao ar e peneirado em malha de 2mm, sob agitação por 12 horas.

Para determinação de fósforo total, as amostras de 0,2g foram digeridas com ácido sulfúrico (H_2SO_4) e peróxido de hidrogênio a 30% (H_2O_2) em bloco digestor a 280°C, seguido de diluição do digerido para 50mL com água destilada.

Para a extração do fósforo orgânico pesou-se 1g de solo em cápsulas de porcelana que foram submetidas a um aquecimento lento até 550°C, e permanecendo nesta temperatura por 2 horas. Depois de resfriada, a cápsula de porcelana com o solo foi pesada, e por diferença se obteve o conteúdo de matéria orgânica do solo (MOS). O solo da cápsula foi transferido para tubos de centrifuga de 30mL usando 25mL de H_2SO_4 0,5M e agitados durante 16 horas. Passado este tempo, este líquido foi equilibrado e posto para centrifugar a 10.000 rpm por 15 minutos.

As alíquotas para determinação do fósforo total, orgânico e o fósforo disponível foram neutralizadas com hidróxido de sódio (NaOH) e determinados colorimetricamente por Murphy-Riley (1962).

2.3.1.7 Análises Estatísticas

As análises estatísticas, teste de médias Tuckey, foram feitas no programa β ioestat 3.0 desenvolvido pela Sociedade Civil Mamiraúá, e o delineamento seguido foi o mesmo que se encontrava em casa de vegetação. As médias e desvios padrões foram feitas no aplicativo Excel do programa Windows 98 da empresa Microsoft.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 02, pode ser visto que a adição do macerado de folhas não alterou de maneira consistente o conteúdo de C_{total} , N_{total} , e relação C/N no solo dos vasos. Isto pode ser devido ao fato de que a quantidade de macerado de folhas em relação a massa total do solo foi pequena e que, por ser uma mistura com solo de superfície, a concentração de matéria orgânica do substrato era originalmente alta. Porém, mesmo não havendo diferença marcante, nota-se uma tendência ao comportamento diferenciado na rizosfera das quatro espécies com relação ao C_{MB} . Provavelmente os 45 dias decorridos entre a aplicação do macerado e a coleta das amostras de solo para a determinação da biomassa microbiana, tenha sido muito longo, e que o máximo de desenvolvimento da população microbiana do solo dos vasos, estimulado pela adição de substratos orgânicos, tenha sido imediatamente após a sua aplicação.

Para o tachi, palheteira e ingá, as médias de matéria orgânica do solo (MOS) não variaram entre os tratamentos para cada espécie. No paricá houve uma pequena variação que aconteceu no tratamento 0, onde a média de MOS foi um pouco menor.

As médias das relações C/N não diferiu entre as espécies, além de ter uma pequena variação entre os tratamentos por espécie.

Tabela 02: Carbono e nitrogênio total, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, relação C/N e matéria orgânica do solo. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.

TR	Tachi	Paricá	Palheteira	Ingá	Tachi	Paricá	Palheteira	Ingá
C _{total} em % (desvio padrão)				N _{total} em % (desvio padrão)				
0	0,84 (0,08)	1,02 (0,16)	0,84 (0,15)	0,82 (0,15)	0,13 (0,03)	0,15 (0,02)	0,12 (0,02)	0,12 (0,01)
1	0,80 (0,16)	0,72 (0,07)	0,89 (0,09)	0,88 (0,07)	0,14 (0,05)	0,11 (0,03)	0,14 (0,04)	0,12 (0,03)
2	0,83 (0,08)	0,70 (0,18)	0,98 (0,21)	0,77 (0,08)	0,13 (0,01)	0,12 (0,02)	0,14 (0,06)	0,13 (0,04)
3	0,87 (0,07)	0,81 (0,08)	0,94 (0,06)	0,88 (0,17)	0,12 (0,03)	0,13 (0,03)	0,10 (0,03)	0,10 (0,02)
4	0,77 (0,16)	0,74 (0,08)	0,87 (0,13)	0,78 (0,05)	0,10 (0,03)	0,13 (0,01)	0,12 (0,06)	0,12 (0,03)
TR	Tachi	Paricá	Palheteira	Ingá	Tachi	Paricá	Palheteira	Ingá
C _{BM} em mg.kg ⁻¹ (desvio padrão)				N _{BM} em mg.kg ⁻¹ (desvio padrão)				
0	6,51 (0,21)	6,19 (0,30)	8,10 (0,39)	7,86 (0,39)	124,16 (7,75)	127,24 (4,07)	106,90 (9,26)	102,69 (8,65)
1	6,89 (0,15)	5,54 (0,36)	8,10 (0,70)	8,01 (0,24)	104,82 (4,83)	101,77 (9,66)	138,12 (7,91)	190,46 (8,70)
2	7,17 (0,47)	5,74 (0,12)	7,55 (0,69)	6,71 (0,21)	121,66 (6,85)	104,60 (4,98)	119,12 (2,20)	113,11 (2,96)
3	7,94 (0,49)	7,06 (0,19)	7,67 (0,33)	6,75 (0,23)	111,81 (3,68)	119,20 (4,80)	111,90 (8,92)	103,61 (3,43)
4	7,32 (0,19)	6,66 (0,52)	7,67 (0,26)	6,48 (0,30)	128,60 (3,74)	113,44 (6,78)	128,56 (9,82)	132,95 (8,09)
TR	Tachi	Paricá	Palheteira	Ingá	Tachi	Paricá	Palheteira	Ingá
Relação C/N (desvio padrão)				MOS em g.Kg solo ⁻¹ (desvio padrão)				
0	5,21 (1,93)	6,90 (1,52)	6,04 (1,11)	6,65 (1,50)	24,02 (1,05)	23,18 (1,71)	24,92 (1,44)	23,26 (1,04)
1	5,90 (1,45)	6,93 (1,89)	6,61 (1,37)	6,28 (1,75)	22,45 (1,83)	25,87 (1,03)	25,33 (1,32)	24,91 (1,01)
2	5,71 (1,40)	7,92 (1,72)	6,62 (1,37)	6,53 (1,06)	27,39 (1,21)	28,17 (1,51)	26,14 (1,82)	24,84 (1,77)
3	6,54 (1,23)	7,84 (1,00)	7,38 (1,08)	6,43 (1,89)	27,13 (1,53)	25,97 (1,55)	29,50 (1,53)	25,63 (1,33)
4	6,02 (1,90)	6,87 (1,85)	6,69 (1,85)	6,51 (1,71)	27,29 (1,11)	24,76 (1,64)	27,08 (1,34)	24,75 (1,51)

Resultados similares encontrou Gama (2002) que realizou análises de solo no nordeste paraense. Logo após o corte o solo já tem ganhos de fertilidade de solo, tanto em ambiente restrito como ex situ.

Na tabela 03, pode-se ver as médias dos teores de fósforo por tratamento em cada espécie. Nas concentrações de fósforo orgânico também foi aplicado o teste Tukey assim que foi feita a análise fatorial ($p > 0,05$). Este dado é importante pois o fósforo orgânico se transforma em fósforo disponível, com a ação de vários fatores, por exemplo a fosfatase ácida. He et al, (2004) ressalta que uma análise de fósforo orgânico é importante pois é através da hidrólise deste, que o fósforo se tornará disponível para as plantas.

A aplicação de doses crescentes de fósforo mineral causou o aumento da concentração de fósforo disponível no solo para todas as espécies.

Os resultados mostram que o P adicionado com extratos vegetais foram em grande parte imobilizado na forma orgânica, ficando apenas uma pequena parte disponível. Este efeito reflete a ação de microrganismos e confirma os resultados obtidos nos experimentos de trituração em grande escala, nos quais os nutrientes, principalmente P e N, são fixados na biomassa microbiana e posteriormente na matéria orgânica do solo, tornando necessária a prática de adubação no primeiro ciclo de cultivo (Kato et al., 2002, Kato, et al., 1999).

Tabela 03: Médias de pH e médias das concentrações de fósforo total, orgânico e disponível no solo. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.

Trat	pH H ₂ O	P _{disponível} ppm	P _{orgânico} ppm	P _{total} ppm
Tachi				
0	4,6 (+0,20)	4,2 (+0,1)c	68,4 (+1,7)c	77,8 (+3,8)
1	4,2 (+0,1)	4,2 (+0,1)c	71,6 (+1,9)b	81,4 (+7,4)
2	4,3 (+0,0)	5,1 (+1,1)b	65,3 (+0,4)c	74,3 (+1,2)
3	4,4 (+0,09)	7,2 (+1,8)ab	89,6 (+1,9)b	101,8 (+7,8)
4	4,7 (+0,07)	8,1 (+1,2)a	103,1 (+1,5)a	117,19 (+12,1)
Paricá				
0	4,4 (+0,09)	3,7 (+0,1)c	67,0 (+2,4)c	76,2 (+6,7)
1	4,6 (+0,07)	3,6 (+0,8)c	70,6 (+2,3)bc	80,3 (+2,3)
2	4,9 (+0,07)	3,6 (+0,2)c	71,1 (+2,7)b	80,8 (+7,1)
3	4,9 (+0,13)	4,8 (+0,8)b	88,1 (+3,4)b	100,2 (+9,3)
4	4,7 (+0,22)	7,2 (+0,8)a	113,7 (+4,8)a	129,2 (+1,1)
Palheteira				
0	4,6(+0,04)	4,7 (+0,2)c	65,8 (+1,5)c	74,8 (+4,1)
1	4,9 (+0,10)	4,5 (+0,5)c	76,6 (+3,7)b	87,1 (+4,8)
2	4,7 (+0,0)	5,1 (+0,7)bc	70,6 (+4,4)b	80,1 (+3,4)
3	4,2 (+0,09)	6,6 (+1,0)b	79,0 (+2,9)b	89,8 (+10,1)
4	4,8 (+0,1)	8,5 (+0,5)a	114,5 (+4,4)a	130,2 (+13,8)
Ingá				
0	4,7 (+0,19)	4,0 (+0,1)c	64,3 (+1,4)c	73,1 (+4,3)
1	4,72 (+0,2)	5,1 (+1,2)b	73,8 (+1,8)b	83,9 (+2,1)
2	4,89 (+0,0)	5,2 (+1,1)b	71,3 (+0,9)b	81,0 (+2,8)
3	4,71 (+0,18)	5,3 (+0,6)b	88,2 (+2,0)ab	100,3 (+7,4)
4	4,3 (+0,19)	7,8 (+0,2)a	106,8 (+2,8)a	121,3 (+8,4)

Nota: Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste tukey ao nível de erro de 0,05.

A mineralização do nitrogênio que é o fenômeno de liberação do N contido em resíduos orgânicos através da degradação do nitrogênio de proteínas e de ácidos nucleicos para a forma de mineral (Paul et al., 1996). Os resultados da mineralização indicaram a existência de diferenças significativas ($p > 0,05$) na resposta induzida pelo sistema radicular das diferentes espécies quando submetidas aos diferentes tratamentos (figura 01).

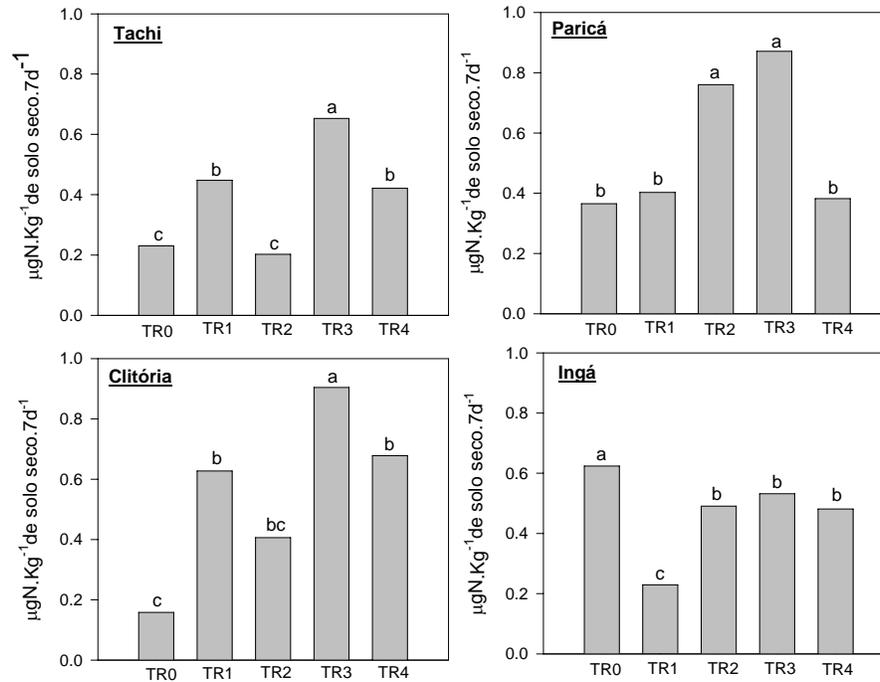


Figura 1: Taxas de mineralização líquida do N no solo dos vasos cultivados com quatro espécies de leguminosas, 45 dias após a aplicação de macerados de folhas enriquecidos com P. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pa. 2005.

Os resultados indicam que entre as quatro espécies, a interação de suas rizosferas com os tratamentos, resultaram em padrões distintos (Fig.01). Nas espécies Tachi e Clitória, a aplicação do macerado de folhas sem adição de P (TR1) estimulou o processo de mineralização, enquanto que a adição de 100ppm de P (TR2) na solução reduziu a mineralização, enquanto que uma dosagem ligeiramente superior (150 ppm, TR3), induziu um aumento na mineralização e ainda um nível acima (200ppm, TR4), a reduziu. Estes resultados, sugerem um ajuste bastante sensível da mineralização do N por pequenas diferenças de P disponível nas rizosferas dessas duas espécies. Na rizosfera de Paricá, a adição de P ao extrato vegetal claramente estimulou a mineralização do N porém no tratamento TR4, a maior quantidade de P, (200ppm) inibiu este processo. Finalmente nas rizosferas de Ingá, a aplicação de extratos vegetais reduziu a mineralização de N em relação as taxas obtidas na rizosfera das plantas testemunha, independentemente da dosagem de P aplicada.

Esses resultados podem ser decorrentes da ação dos microrganismos estimulados pelos exudados das raízes ou mesmo pelas próprias raízes, uma vez que as quantidades de P adicionadas, apesar de aumentar somente ligeiramente os teores de P disponível no solo (Tabela 03), causaram um nítido efeito sobre o crescimento das mesmas. Resultados de outros autores, mostram que pode ocorrer uma estimulação da atividade de microrganismos associados a rizosferas de plantas superiores decorrente da interação entre N e P (Hodge et al., 2000). Foi também reconhecida uma co-limitação entre a disponibilidade de N e P no crescimento da vegetação secundária nativa em áreas degradadas (Davidson et al., 2004). Portanto, espécies cuja rizosfera possa estimular a mineralização e disponibilização de N estimuladas por pequenos aumentos de P disponível, podem ser vantajosas, no caso de serem utilizadas em sistemas de pousio acelerado e aplicação de fosfatos de baixa solubilidade.

As atividades de fosfatase ácida medidas no solo da rizosfera das quatro espécies, apresentam valores bastante próximos (1600 a 1200 $\mu\text{g 4-Nitrofenol.gMS}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Porém a aplicação de P reduziu a atividade desta enzima. Este comportamento está de acordo com o relatado na literatura onde em geral a carência de P estimula a produção dessa fosfato monoesterase, e a adição de P a reduz, tanto em plantas superiores como em microrganismos (Radersma et al., 2004, Szott & Melendez, 2001).

Dentro de cada espécie, houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos e novamente ocorrem padrões comuns nas espécies Tachi, Palheitera e Paricá. Os resultados obtidos na rizosfera de Ingá, difere das outras pois nela, encontramos atividades menores do que nas outras espécies e, sem um claro efeito depressivo decorrente da adição de P, a qual provocou um aumento de 4,0 para 7,8 ppm de P disponível do tratamento testemunha para o tratamento que recebeu o extrato com 200ppm de P (Tabela 3).

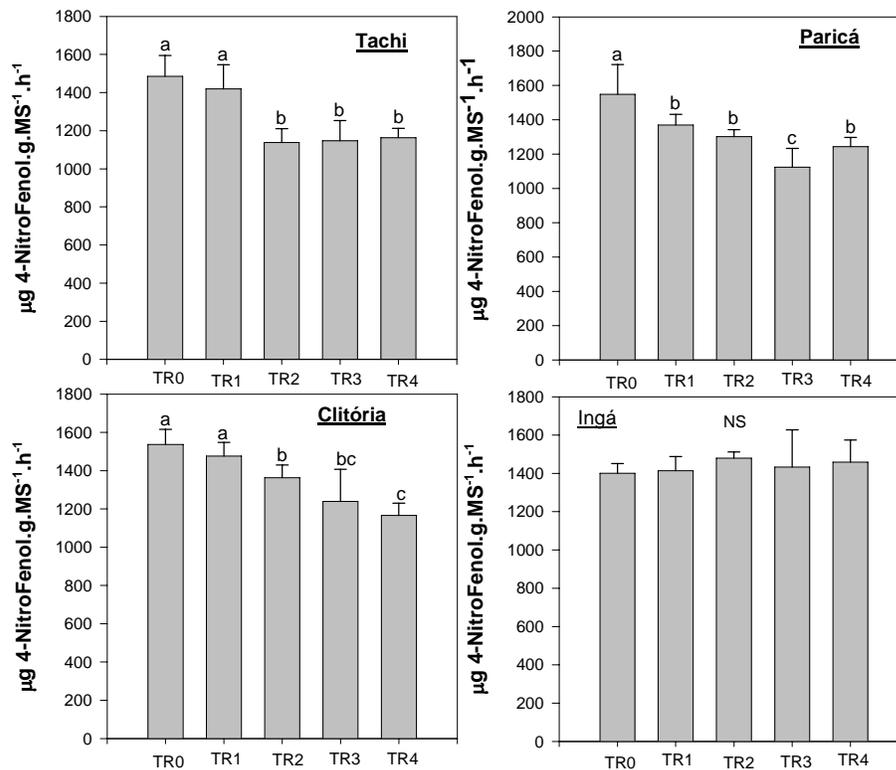


Figura 2: Atividade de fosfatase ácida no solo das rizosferas das diferentes espécies de leguminosas. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.

A disponibilidade de N no solo depende da taxa de mineralização do N orgânico pelos microrganismos e enzimas extracelulares como proteases, deaminases e urease. Estas enzimas tem suas atividades relacionadas pois representam diferentes passos na mineralização do N a partir de formas orgânicas mais complexas, e suas atividades no solo são reguladas pela atividade microbiana do solo, fatores ambientais e manejo (Zaman et al., 1999).

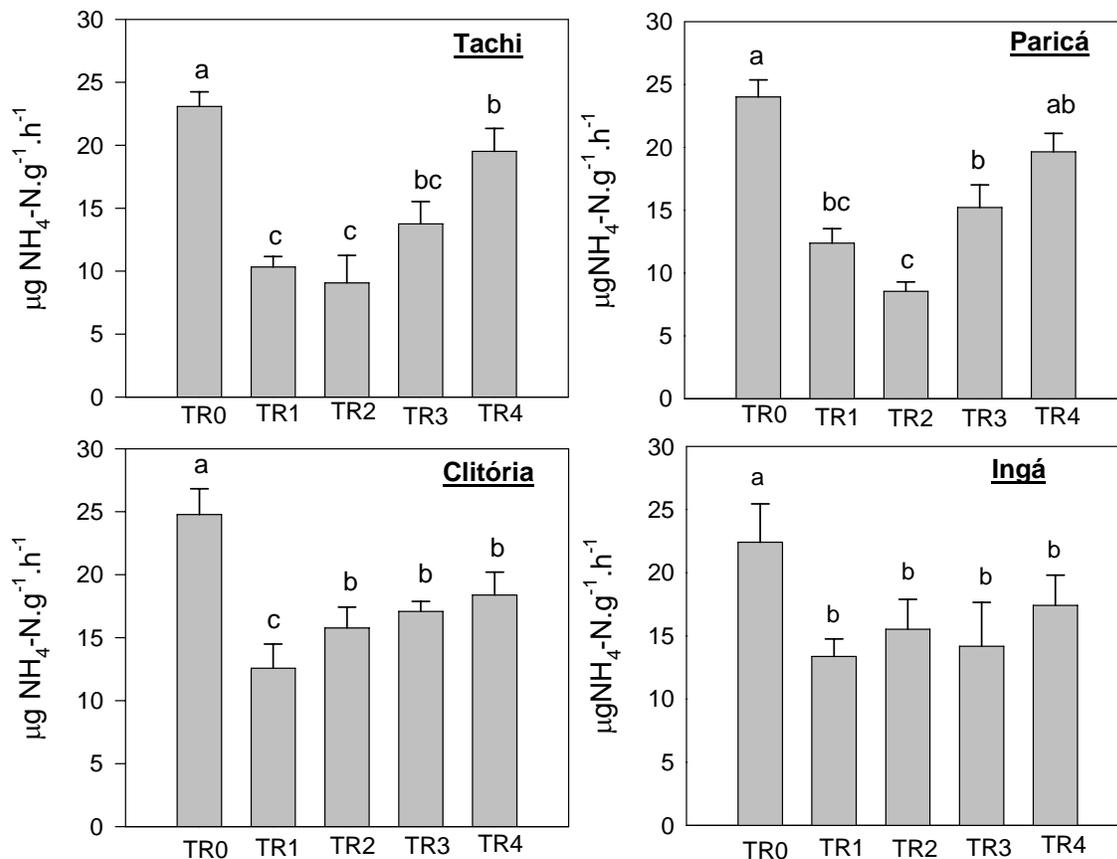


Figura 3 Atividades de urease no solo das rizosferas das diferentes espécies de leguminosas. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.

A urease cataliza a hidrólise da uréia em CO_2 e NH_3 , com um mecanismo de reação baseada na formação de carbamato como intermediário (Tabatabai, 1982). Esta enzima é largamente distribuída na natureza pode ser encontrada em células de plantas, animais e microrganismos e sua atividade está ligada a matéria orgânica, não sendo porem significativamente ligada a biomassa microbiana e é afetada por metais pesados e disponibilidade de N em vários tipos de solos (Alef et al., 1998).

Para as 4 espécies, as atividades medidas nas rizosferas das plantas controle (TR0) foram mais elevadas e muito semelhantes. No entanto, adição do extrato vegetal teve um claro efeito depressivo sobre a atividade dessa enzima nas rizosferas de todas as 4 espécies. Nas espécies Tachi, Paricá e Palheteira, a adição de P, tendeu a reverter o efeito depressivo exercido pela adição dos extratos foliares. Somente em Ingá, essa reversão não foi clara.

Mesmo que não tenha ocasionado uma grande alteração dos teores de N orgânico do solo, a adição de extratos, pode ter afetado a atividade dessas enzimas através do efeito da adição conjunta de polifenóis, os quais tem efeito sobre as atividades de várias enzimas.

A interação solo-planta foi visível, em todos os parâmetros observados pois foi possível evidenciar diferentes padrões de comportamento no solo das rizosferas das diferentes espécies.

2.5 CONCLUSÕES PARCIAIS

- As baixas relações C/N do solo dos vasos, indicam maior tendência a mineralização do Nitrogênio;
- Na dosagem utilizada, a adição do extrato de folhas não causou modificações significativas nos teores de C, N e relação C/N dos solos dos vasos.
- As quantidades de fósforo mineral adicionadas, aumentaram a quantidade de P disponível e de P orgânico, provavelmente fixado na biomassa microbiana do solo ou adsorvido na matéria orgânica existente no substrato dos vasos;
- A adição de extratos vegetais enriquecidos com P solúvel, modificou as respostas das ectoenzimas estudadas, ocasionando diminuição da atividade de fosfatase ácida e da uréase em relação aos controles. Porém, no caso da uréase, a atividade foi estimulada nas rizosferas com maiores teores de P disponível;
- A mineralização de N e as respostas enzimáticas nas rizosferas das diferentes espécies, foram mais influenciadas pela espécie que pela aplicação dos extratos vegetais.

2.6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. Academic Press, New York, 1998, p. 576.

AYRES, M., AYRES JR., M. **BioEstat 3.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Direção geral de Daniel L. Ayres e Alex de A. S. dos Santos. Belém-Pará. CD-Rom. Produzido por Sonopress Indústria Brasileira.

BAKER, K. F. The determination of organic carbon in soil using a probe-colorimeter. **Laboratory practice**, v. 25, p. 82-83, 1976.

BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. **Soil Biol. Biochem.** vol. 14, p. 319-329, 1982.

EIVAZI, F.; TABATABAI, M.A.; Phosphatase in Soils. **Soil Biol. Biochem.** v.9, p. 17-172, 1977

DAVIDSON, E.A.; CARVALHO, C.J.R. de; VIEIRA, I.C.G.; FIGUEIREDO, R.de O. F.; MOUTINHO, P.; ISHIDA, F.Y.; SANTOS, M.T.P.dos; GUERRERO, J.B.; KALIF, K.; SABÁ, R.T. Nitrogen and phosphorus limitation of biomass growth in a tropical secondary forest. **Ecological Applications**, 14(4), supplement, p.150-163, 2004.

GRIERSON, P.F.; ADAMS, M.A. Plant species affect acid phosphatase, ergosterol and microbial P in a Jarrah (*Eucalyptus marginata* Donn ex Sm.) forest in south-western Australia. **Soil Biol. Biochem.** v.32, p.1817-1827, 2000.

HART, S.C.; STARK, J. M.; DAVIDSON, E.; FIRESTONE, M. K. Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, J. S.; BOTTOMLEY, P. S. **Methods of soil analysis: Microbiological and biochemical properties** (part 2). Wisconsin. Books series: Soil Science Society of America, n 5. 1994. 1018p.

HE, Z.; GRIFFIN, T.S.; HONEYCUTT, C.W. Enzymatic hidrolisis of organic phosphorus in Swine Manure and Soil. **J. Environ. Qual.** n. 33, p.367-372, 2004.

HEDLEY, M.J.; STEWART, J.W.B. Method to measure microbial phosphate in soil. **Soil Biol. Biochem.** n. 14, p.377-385, 1982.

HODGE, A., ROBINSON, D., FITTER, A., Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? **Plant Science: Trend and Perspectives.** n.5, p.304-308, 2000.

JIMÉNEZ, J.J.; CEPEDA, A.; DECAËNS, T.; OBSERSON, A.; FRIERSEN, D. K. Phosphorus fractions and dynamics in surface earthworm cast under native and improved grassland in a Colombian savanna Oxisol. **Soil Biol. Biochem.** n.35, p.715-727, 2003.

KAMPRATH, E.J.; WATSON, M.E. Conventional soil and tissue test for assessing the phosphorus status of soil. In: KHASAWNEH, F.E.; SAMPLE, E.C.; KAMPRATH, E.J. **The role of phosphorus in agriculture.** Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1980.p.433-470.

KANDELER, E.; GERDER, H. Short-Term Assay of Soil Urease Activity Using Colorimetric Determination of Ammonium. **Biology & Fertility of Soils**, p.8-72, 1988.

KATO, M.S.A.; KATO, O.R.; DENICH, M.; VLEK, P.L.G. Fire-free alternatives to slash-and-burn for shifting cultivation in the east Amazon region: The role of fertilizers. **Field Crop Research**, n.62, p.225-237, 1999.

KATO, O.R.; KATO, M. do S. A.; JESUS, C.C. de; RENDEIRO, A.C. Época de preparo de área e plantio de milho no sistema de corte e trituração no município de Igarapé-Açu, Pará. **In: Comunicado Técnico-Embrapa**, n 64, 3p., mar 2002.

KHANNA, P.K. Nutrient Cycling under mixed-species tree systems in Southeast Asia. **Agroforestry Systems** n.38, p. 99-120, 1998.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.** São Carlos, ed. RiMa, 2000. 531p.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação.** São Paulo, ed. Agronômica Ceres, 1989. 259p.

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A Modified Single Solution Methods for the Determination of Phosphate in Natural Waters. **Anal. Chemistry.** Acta 27: 1962. 31-33.

PAUL, E. A., CLARK, F. E., **Soil microbiology and biochemistry.** California: Academic Press, 1996. 182-196p.

RADERSMA, S., GRIERSON, P.F. Phosphorus mobilization in agroforestry: Organic anions, phosphatase activity and phosphorus fractions in the rhizosphere. **Plant and Soil.** n.259, p.209-219, 2004.

RYAN, P.R.; DELHAIZE, E.; JONES, D.L. Functions and Mechanism of organic anion exudation from plant roots. **Annu. Rev. Plant. Physiol: Plant Mol. Biol.** n°52, p. 527-560, 2001.

SANCHEZ, P.A. Science in Agroforestry. In: KRISHNAMURTHY, L.; AVILA, M. **Agroforestería básica**. ICRAF/PNUMA.1999.

SMITH, F. W. The phosphate uptake mechanism. **Plant Soil** n.245, p. 105-114, 2002.

SMITH, F.W. Sulphur and phosphorus transport systems in plant. **Plant and Soil** n 232, p. 109-118, 2001.

SZOTT, L.T.; MELENDEZ, G. Phosphorus availability under annual cropping, alley cropping, and multistrata agroforestry systems. **Agroforestry Systems** n.53, p.125-132, 2001.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: MILEER, A.L.; KEENEY, D.R. **Methods of Soil Analysis: Chemical and Microbiological Properties** (part 2). Madison. American Society of Agronomy.1982.

TEXEIRA, L.B.; OLIVEIRA, R.F. de; MARTINS, P.F.da S. Ciclagem de nutrientes através da liteira em floresta, capoeira e consórcios com plantas perenes. **Rev. Ciênc. Agrár.** n.36, p 19-27, 2001.

VORONEY. R.P.; WINTER, J.P.; GREGORICH, E.G. Microbe/plant interactions. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. **Carbon Isotope Techniques**. New York. Academic Press, 1991.

YANG, J.E.; SKOGLEY, E.O.; SCAF, B.E.; KIM, J.J.; A Simple Spectrophotometric Determination Of Nitrate In Water, Resin And Soil Extracts. **Soil Science Society Ambient Journal** n.2, p.1108-1111, 1998.

ZAMAN, M.; DI, H. J.; CAMERON, K. C.; FRAMPTON, C. M. Gross nitrogen mineralization and nitrification rates and their relationships to enzyme activities and the soil

microbial biomass in soils treated with dairy shed effluent and ammonium fertilizer at different water potentials. **Biol Fertil Soils** n. 29, p.178–186, 1999.

CAPÍTULO 3: EFEITOS DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO E FÓSFORO SOBRE O CRESCIMENTO E A ABSORÇÃO DE NUTRIENTES.

3.1 RESUMO

Grande parte da Amazônia oriental apresenta solos quimicamente pobres e a disponibilidade de N e P é uma das principais restrições ao crescimento da vegetação secundária nesta região. Nestas condições, a associação das plantas com microrganismos, exerce papel chave nos processos de sucessão em que espécies capazes de simbiose com bactérias e/ou fungos fixadores ou facilitadores da absorção desses elementos são mais bem sucedidas. O manejo ou uso da terra também pode exercer grande influência sobre o funcionamento e a abundância relativa desses microrganismos, através de interações em várias escalas temporais e espaciais, onde a abundância relativa de espécies vegetais e a disponibilidade e o tipo de matéria orgânica e outros substratos são fatores muito importantes. No processo alternativo de preparo de área usando corte e trituração, uma grande quantidade de solutos é lixiviada do material triturado resultante penetrando no solo, podendo interagir com a biota do solo e influenciar finalmente também na associação de microrganismos simbióticos com as raízes das plantas. O objetivo deste trabalho foi quantificar as interações de plantas jovens de quatro leguminosas arbóreas de crescimento rápido com os microrganismos do solo, sob efeito da aplicação de extratos vegetais enriquecidos com P inorgânico, e também os efeitos da disponibilidade desses elementos sobre a absorção de nutrientes e o crescimento das plantas jovens em vasos. Foram avaliadas a quantidade de esporos e infecções micorrízicas e a quantidade de nodulações indicadoras de associação com bactérias fixadoras de N. Para avaliar mais diretamente a capacidade de absorção de cada espécie, foi medido o fluxo de fósforo e nitrogênio na seiva bruta, a taxa de crescimento (TCA) e o teor de P existente nas folhas.

Palavras-chave: micorrizas, bacterias fixadoras de N, fluxo de seiva, crescimento vegetal, fósforo e nitrogênio

ABSTRACT

In the most part of oriental Amazonia show soils chemistry poor and the availability of N and P is the one of most restriction of growing in the secondary vegetation. The associations between plants and microorganism are the key of symbiotic process with bacteria and/or fungus that are biological nutrient fixation and helps to absorption successful nutrients. The soil management are influenced by a relative abundance of microorganism. Those interactions happens in many scales of time and space where the nutrient availability, organic matter, others substrate are very important factors. Slash and mulch is an alternative process of soil management, where the solutes are leaching to the mulch, and these solutes can influence the microorganism and plant symbiotic association at soil biota. The objective of this paper is quantifying the interactions between young legumes of fast growth plants and soil microorganism that were applicated vegetal extract with inorganic P, also the nutrient availability for the absorption and the growing

of young plants. Were quantifying the spores, mycorrizas infections, and the nodulations of bacteria that fix biological N. The flux of phosphorus and nitrogen at sap answer direct the absorvation capacity in each species, also were evaluated the growth net and P concentration in leaves.

Key-word: mycorrizas, bacterias N fixer, sap fluxes, growth plant, phosphorus, nitrogen

3.2 INTRODUÇÃO

Uma parte importante da disponibilização dos nutrientes do solo para as plantas se dá na rizosfera próxima as raízes, onde as atividades de microrganismos e suas interações com as raízes das plantas fazem com que eles fiquem disponíveis. Isto foi constatado também em um sistema silvopastoril, no qual observou-se que as maiores atividades química, bioquímica e biológica estavam concentradas na região da rizosfera, pois além das atividades das plantas existia também a interações com microrganismos (Scott, 2003).

A baixa disponibilidade de fósforo e/ou nitrogênio induz uma maior interação da raiz com microrganismos em simbiose (Smith et al., 2003). Uma característica de ecossistemas de floresta sob baixa disponibilidade de nutricional é uma alta atividade de mineralização, e nestas florestas as infecções de micorrizas aumentam até 60% da absorção de nutrientes (Schneider et al., 2001).

Davidson et al., (2004), observou em florestas secundárias do nordeste do Pará, que as associações com fungos micorrizicos em espécies nativas resultaram em uma disponibilidade de P. Assim, recomenda-se a utilização de espécies que tem essa facilidade de mobilização através de interações com microrganismos disponibilizadores de P e fixadores de nitrogênio atmosférico, pois disponibilizam nutrientes para o sistema agrícola além de aumentarem a diversidade de espécies na área (Khanna, 1998).

Em florestas secundárias das regiões com baixa disponibilidade nutricional, alternativas de uso da terra como o cultivo utilizando o corte e trituração associada a espécies com potenciais interações com microrganismos do solo contornam estas deficiências nutricionais.

O objetivo foi avaliar o efeito da adição de extratos vegetais enriquecidos com fósforo inorgânico sobre a interação das quatro leguminosas com microrganismos do solo, avaliar o fluxo de fósforo e nitrogênio nas as plantas assim como o crescimento vegetativo das mesmas.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Contagem de esporos de fungos micorrízicos do solo

As amostras de solo foram homogeneizadas e retiradas 30g para a extração de esporos utilizando o método de peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), seguido por centrifugação em água a 2.000 rpm, durante 2 minutos. Os esporos extraídos foram lavados com água corrente sobre peneira com abertura de malha de 0,053mm e transferidos para placas de Petri para contagem em lupa estereoscópica. Foram contados os esporos todos os esporos viáveis presentes dos quatro principais gêneros de fungos micorrizicos vesicular arbusculares que ocorrem nos solos da Amazônia e que são *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Glomus* e *Gigaspora* (Chu & Falesi, 1999). A média por tratamento foi feita através da contagem dos esporos em duas repetições por cada vaso.

3.3.2 Contagem do número de infecções micorrízicas nas raízes

O número de infecções de fungos micorrizicos arbuscular-vesiculares nas raízes das plantas foi feita em subamostras de raízes finas (>1mm de diâmetro), retiradas dos sistemas radiculares, após lavagem em água corrente sobre peneira de 2mm de malha. As amostras de raízes foram fixadas em FAA (formolaldeído, ácido acético e álcool) até a sua preparação e contagem para contagem do número de infecções por centímetro, realizada pelo método convencional de clarificação com KOH, seguido de coloração com azul de tripano em lactoglicerol. As infecções foram contadas com auxílio de um microscópio ótico (40X), em 30 segmentos de 1 cm montados em lamina e lamínula. A quantidade de infecções micorrízicas nas raízes foi representada pela média dessas contagens efetuadas em 3 laminas por cada planta.

3.3.3 Avaliação do número de nódulos das raízes.

As raízes lavadas foram levada para o laboratório e as nodulações típicas de associações com bactérias fixadoras de N presentes em toda a extensão da raiz foram contadas. Alguns

nódulos foram cortados para verificar a funcionalidade desses nódulos que apresentavam o interior de cor rosada característica. A média desta contagem foi expressada para cada espécie por tratamento.

3.3.4 Coleta de seiva, teor de nitrogênio e fósforo e cálculo de fluxo de seiva.

3.3.4.1 Coleta de seiva:

No dia 45º dia após a imposição dos tratamentos, foi retirada a parte aérea das plantas por um corte transversal no caule a aproximadamente 6cm do solo. Imediatamente, foi retirada a casca de uma faixa de 1cm abaixo do corte e, aparte cortada foi colocada em contato com a superfície de um cartucho de papel de filtro quantitativo (Whatman nº42, livre de cinzas), contido em um tubo de ensaio de 5mL de capacidade. Este conjunto previamente seco e pesado em balança analítica foi mantido invertido sobre a superfície cortada do caule e selado com Parafilm ao caule. Após 24 horas os tubos coletores foram retirados, tampados, pesados e imediatamente acondicionadas em freezer. O diâmetro da seção do caule, assumido como contendo o xilema, foi medido com auxílio de um paquímetro.

3.3.4.2 Teor de nitrogênio e fósforo na seiva bruta:

O papel filtro de cada tubo, após ser descongelado, foi retirado e pré-digerido em tubo digestor com 5ml H_2SO_4 por 4 dias, depois foi levado ao bloco digestor a $280^\circ C$ onde foi digerido com H_2SO_4 e H_2O_2 a 30%. Após resfriamento, o conteúdo digerido foi diluído para um volume de 20mL com água destilada, sendo usado para as determinações de N e P.

O teor de nitrogênio foi determinado segundo Mulvaney (1996) e o fósforo por Murphy e Riley (1962). Para efeito de cálculo, foram levados em consideração os pesos secos e úmidos (após a coleta de seiva), assumindo a densidade da seiva bruta como igual a da água.

3.3.4.3 Fluxo de seiva no xilema:

Com base no peso de seiva coletado (assumindo a densidade da seiva bruta como 1), o tempo de coleta, a área de xilema na área cortada do caule, foi estimado o fluxo de seiva bruta.

De posse dos teores de fósforo e nitrogênio da seiva, foi calculado o fluxo de nutrientes no xilema.

$$\phi = \frac{(Pu - Ps)}{\text{área} \times \text{tempo}}$$

onde:

ϕ : fluxo de seiva

Pu: Peso úmido do coletor de seiva.

Ps: Peso seco do coletor de seiva.

Os valores encontrados com o cálculo de fluxo de seiva foram submetidos a uma análise fatorial, e a ao teste Tukey quando houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias.

3.3.5 Taxa de crescimento absoluto (TCA) e determinação de fósforo e nitrogênio nos tecidos foliares.

3.3.5.1 TCA:

As plantas foram separadas em folhas, caule e raiz e foram secados em estufa a 65°C por 72 horas e pesadas em balança analítica.

Para o cálculo da TCA foi utilizada a biomassa vegetal antes da imposição dos tratamentos. Foram escolhidos aleatoriamente 4 indivíduos por espécie assim que o cotilédone caiu, ou seja, antes da adubação e de cada indivíduo foram separadas as folhas, o caule e a raiz, os quais foram secados em estufa a 65°C por 72 horas e pesadas em balança analítica. Os dados de massa seca das mesmas partes foram estimados em outras plantas após 45 dias.

O cálculo da TCA foi feito segundo a fórmula:

$$TCA(g.d^{-1}) = \frac{(w_1 - w_0)}{(t_1 - t_0)}$$

onde:

TCA: Taxa de crescimento absoluto, em gramas por dia.

w_1 : biomassa vegetal no fim do experimento em gramas.

w_0 : biomassa vegetal antes da implantação do experimento em gramas.

t_1 : tempo do fim do experimento em dias, 45dias.

t_0 : tempo do início do experimento, 0dias.

3.3.5.2 Teor de fósforo e nitrogênio dos tecidos foliares:

As folhas após serem pesadas, foram trituradas em um moinho de facas. O material triturado foi digerido com H_2SO_4 e alíquotas de H_2O_2 a 30% até a obtenção do extrato límpido e incolor, o qual foi posteriormente diluído para um volume de 50 mL com água destilada. Os teores de fósforo foram determinados por Murphy e Riley (1962), e os de nitrogênio foram determinados seguindo a metodologia de Mulvaney (1996). Paralelamente amostras foliares trituradas de 1g foram pesadas, secadas em estufa a 105°C, novamente pesadas para correção da umidade.

Os teores de fósforo e nitrogênio foram submetidos a uma análise fatorial e quando tinham diferença significativa ($p > 0,005$), foi aplicado o teste Tukey para comparar as médias.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 4, são mostradas as médias do número de esporos micorrízicos, infecções micorrízicas e nodulações. O paricá e a palheteira foram às espécies que mais apresentaram interações com esses microrganismos enquanto que praticamente não foram encontradas infecções micorrízicas no tachi.

Nas plantas de ingá, o número de infecções e de nódulos, embora superiores aos encontrados nas raízes de tachi, foram menores do que os encontrados para palheteira e paricá. Espécies que apresentam a ocorrência simultânea de estruturas capazes de fixar N e aumentar a aquisição de P, são obviamente vantajosas para serem utilizadas em sistemas de “alley cropping” pois elas podem aumentar a ciclagem dos dois nutrientes mais importantes e limitantes nestes

solos e portanto, as espécies palheteira e paricá apresentam nítidas vantagens neste aspecto com relação às demais.

Normalmente o aumento dos teores de P disponível no solo, através da adubação, causam a diminuição tanto do número de esporos como de infecções micorrízicas nas raízes, porém a aplicação somente do extrato vegetal sem adição de P (T1, tabela 4), causou a redução desses parâmetros.

Estes efeitos podem estar relacionados com a adição de polifenóis juntamente com os extratos vegetais os quais podem ser maléficis aos microrganismos.

Tabela 4: Esporos micorrízicos, infecções micorrízicas e nodulações no solo da rizosfera e nas raízes de quatro leguminosas tratadas com extratos vegetais enriquecidos com fosfato inorgânico. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005

TR	Esporos micorrízicos (n°.30g solo ⁻¹)	Infecções micorrízicas (n°.cm ⁻¹ de raiz)	Número de nódulos/ planta
Tachi			
0	1,0	0,0	3,8
1	1,0	0,0	4,1
2	1,0	1,1	4,5
3	2,0	0,0	4,0
4	1,0	0,0	3,8
Paricá			
0	56,65	73,19	19,2
1	30,14	26,41	12,7
2	45,56	32,10	16,3
3	38,65	24,23	15,4
4	21,36	10,92	16,7
Palheteira			
0	36,52	13,99	13,3
1	21,65	21,71	11,4
2	27,85	16,92	11,8
3	26,55	22,56	12,1
4	30,25	17,24	12,5
Ingá			
0	3,63	1,80	7,7
1	2,63	0,82	7,2
2	4,58	3,17	7,9
3	3,12	2,50	8,1
4	2,36	0,36	8,2

Na tabela 05, o fluxo de nutrientes não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos por espécies, Davidson et al. (2004) lembra que as leguminosas são introduzidas em florestas secundárias na Amazônia, pois tem o importante papel de fixar nitrogênio e fazendo

assim com que este não seja limitante no crescimento das plantas. A concentração de nitrogênio no solo foi a mesma para todos os tratamentos. As concentrações de N dos tecidos foliares nos tratamentos que tiveram a adição de extrato vegetal enriquecido com fosfato inorgânico, não diferiram entre si para todas as espécies ($p < 0,05$), apesar de apresentar um leve aumento com o aumento do P disponível, sugerindo que este aumento pode estar relacionado com o aumento da biomassa das raízes estimulado pelo P.

Tabela 5: Fluxos de fósforo e nitrogênio e concentrações foliares de fósforo e nitrogênio. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, Pa. 2005.

Trat	Fluxo de nitrogênio ($\mu\text{gN.gSeiva}^{-1}.\text{mm}^{-2}.\text{h}^{-1}$)	Fluxo de fósforo ($\mu\text{gN.gSeiva}^{-1}.\text{mm}^{-2}.\text{h}^{-1}$)	Concentração foliar de nitrogênio (mgN.g^{-1})	Concentração foliar de fósforo (mgP.g^{-1})	TCA (g.d^{-1})
Tachi					
0	0,945b	0,074b	8,95b	0,77c	0,039c
1	0,525c	0,107 ^a	10,34 ^a	0,86c	0,041c
2	1,203 ^a	0,032c	10,99 ^a	1,08b	0,140b
3	1,052ab	0,015d	11,40 ^a	1,20b	0,139b
4	1,525 ^a	0,017d	11,88 ^a	1,41a	0,179 ^a
Paricá					
0	0,130d	0,010b	8,85b	1,06c	0,166b
1	0,332c	0,025ab	11,44 ^a	1,09c	0,233b
2	0,346c	0,019b	12,01 ^a	1,37b	0,268 ^a
3	1,231b	0,029 ^a	12,18 ^a	1,40b	0,268 ^a
4	1,178 ^a	0,020ab	12,20 ^a	1,52a	0,269 ^a
Palheteira					
0	0,107d	0,008 ^{NS}	12,89b	1,26c	0,329c
1	0,171cd	0,015 ^{NS}	14,56 ^a	1,27c	0,319c
2	0,259c	0,015 ^{NS}	14,59 ^a	1,32bc	0,364b
3	1,075b	0,010 ^{NS}	14,72 ^a	1,51b	0,394 ^a
4	1,508 ^a	0,020 ^{NS}	14,99 ^a	1,97a	0,367b
Ingá					
0	0,100d	0,004 ^{NS}	12,06b	1,15c	0,241b
1	0,167d	0,008 ^{NS}	13,12 ^a	1,16c	0,261ab
2	1,275b	0,005 ^{NS}	13,16 ^a	1,48 ^a	0,282ab
3	1,545 ^a	0,005 ^{NS}	13,55 ^a	1,36b	0,302a
4	0,933c	0,006 ^{NS}	13,72 ^a	1,38b	0,311a

Foram utilizadas letras para agrupar as médias que tiveram o mesmo efeito segundo o teste de médias utilizado.

O fluxo de nitrogênio na seiva teve relação direta com a adubação com P mineral para todas as espécies, com os maiores fluxos de N constatados nas plantas sob tratamento de maior

disponibilidade de P, sugerindo um efeito benéfico da maior disponibilidade de P sobre a atividade de absorção de nutrientes e de fixação de N pelas associações micorrizicas e nódulos radiculares. Este maior fluxo, não se refletiu em um aumento do teor de N nas folhas mas, embora não seja mostrado, o estoque de N contido na biomassa da parte aérea das plantas pode ter aumentado.

No caso do P, de modo contrário ao que ocorreu com o N, o fluxo de P no xilema não variou com a adição de P solúvel. Porém, os teores de P nas folhas mostraram aumento nos tratamentos com maior quantidade de P nos extratos vegetais aplicados. Parte desses efeitos pode ser explicado pela pequena mobilidade de P no solo, fazendo com que a absorção desse nutriente se dê basicamente nas camadas da rizosfera mais próximas da raiz e que essa mobilização pode levar ao esgotamento dos estoques próximos. Deste modo, como as raízes tiveram sua dinâmica de crescimento e conseqüentemente o espaço radicular restringido pelo vaso, após o máximo de crescimento a zona de mobilização igualou-se em todos os tratamentos. Porém, as quantidades já acumuladas nos tecidos vegetais durante o crescimento, foram diferentes.

3.5 CONCLUSÕES PARCIAIS

- As espécies paricá e palheteira apresentaram maior número de nódulos e infecções micorrizicas em relação as outras espécies;
- O número de esporos foi maior nas rizosferas de Paricá e Palheteira, mesmo com o aumento de P disponível;

Foram utilizadas letras para agrupar as médias que tiveram o mesmo efeito segundo o teste de médias utilizado.

- A palheteira foi a espécie que melhor se adaptou aos diversos níveis de adubação de extrato vegetal enriquecido com fósforo mineral.
- O fluxo de N na seiva das diferentes espécies, aumentou nos tratamentos com maior disponibilidade de P, havendo portanto sinergia entre a aplicação dos extratos vegetais e a disponibilidade de desse elemento;
- Como o N provavelmente não foi limitante, a disponibilidade de P estimulou o crescimento nas quatro espécies estudadas

3.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições do ensaio usando a adição de extrato de folhas, para imitar o lixiviado das folhas e ramos resultante do processo de trituração, ficou evidenciado que 45 dias após a aplicação, havia pouco efeito sobre os teores de C, N e conseqüentemente da relação C/N do substrato, e somente os teores de P foram alterados substancialmente.

Grande parte do P mineral adicionado, ou imobilizado na forma de P orgânico por ação dos microrganismos ou adsorvido na matéria orgânica do substrato. Estes efeitos podem ocorrer também em condições naturais, onde a maior disponibilidade de substrato carbonado, induz a proliferação de microrganismos, os quais imobilizam o P dentro de suas estruturas. Provavelmente, este surto de crescimento deve ter ocorrido antes dos 45 dias e assim não foi evidenciado pelas medidas de C e N da biomassa microbiana do solo.

Embora não seja possível separar efeitos, a interação entre a ação das raízes das diferentes espécies, microrganismos do solo e a aplicação do extrato vegetal, provocou modificações evidentes nas respostas das ectoenzimas estudadas e assim provavelmente a mineralização do N e do P pode ter sido mais influenciada pelas espécies de leguminosas do que pela aplicação dos extratos vegetais.

A presença de raízes das espécies, Paricá e Palheteira, estimularam mais a produção de esporos de fungos micorrizicos. Da mesma maneira, nestas duas espécies, o numero de nódulos produzidos por associação com bactérias fixadoras de N e de pontos de infecção por fungos micorrizicos vesicular-arbusculares, foram muito superiores nessas duas espécies, quando comparadas com as espécies Tachi e Ingá, classicamente usadas em associações agroflorestais e para pousio acelerado. Como ambas as estruturas aumentam o potencial de fixação e mobilização de N e P do solo, estas espécies poderiam ser mais vantajosas para o uso nestas aplicações.

3.7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CHU, E.Y.; FALESI, I.C. Ocorrência de esporos de fungos micorrízicos arbusculares no Baixo Amazonas. **In: Boletim de Pesquisa - Embrapa Amazônia Oriental**, n.5, 21p., 1999.

DAVIDSON, E.A.; CARVALHO, C.J.R. de; VIEIRA, I.C.G.; FIGUEIREDO, R.de O. F.; MOUTINHO, P.; ISHIDA, F.Y.; SANTOS, M.T.P.dos; GUERRERO, J.B.; KALIF, K.; SABÁ, R.T. Nitrogen and phosphorus limitation of biomass growth in a tropical secondary forest. **Ecological Applications**, 14(4), supplement, p.150-163, 2004.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogen species extracted soil by wet sieving and decanting. **Transaction British Mycology Society** v.46, p. 235-246, 1963.

KHANNA, P.K. Nutrient cycling under mixed-species tree systems in southeast Asia. **Agroforestry Systems** n38, p. 99-120, 1998.

MULVANEY, R.L. Nitrogen: Inorganic Forms. In: SPARKS, D.L.; PAGES, A.L.; HEMKE, P.A.; LOEPPERT, R. H.; SOLTANPOUR, P.N.; TABAITABAI, M.A.; JOHN-STON, C.T.; SUMMER, M.E. **Methods of Soil Analysis, part 3. Chemical Methods**. Madison. Book Series: Soil Science Society of America, 1996.

MURPHY, J.; RILEY, J.P. A Modified Single Solution Methods for the Determination of Phosphate in Natural Waters. **Anal. Chemistry**. Acta 27: 31-33.

SCHNEIDER, K.; TURRION, M.B.; GRIERSON, P. F.; GALLARDO, J. F. Phosphatase activity, microbial phosphorus, and fine root growth in forest soils in the Sierra de Gata, western central Spain. **Biol Fertil. Soils** n.34, p.151-155, 2001.

SCOTT, J. T.; CONDRON, L.M. Dynamics and availability of phosphorus in the rizosphere of a temperate silvopastoral system. **Biol Fertil Soils**. n.9, p. 65-73, 2003.

SMITH, F.W.; MUDGE, S.R.; RAE, A.L.; GLASSOP, D. Phosphate transport in plants. **Plant and Soil**. n.248, p.71-83, 2003.