

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

ANDRÉ LUIZ OLIVEIRA DE FRANCISCO

Estado nutricional e micorrização em genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*)  
cultivados em solo sob diferentes ciclos temporais de colheita de cana sem queima

Piracicaba

2013



ANDRÉ LUIZ OLIVEIRA DE FRANCISCO

Estado nutricional e micorrização em genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*)  
cultivados em solo sob diferentes ciclos temporais de colheita de cana sem queima

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Centro de Energia Nuclear na Agricultura  
da Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Biologia na  
Agricultura e Meio Ambiente

Orientador: Prof. Dr. José Lavres Junior

Piracicaba

2013

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

**Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP**

Francisco, André Luiz Oliveira de

Estado nutricional e micorrização em genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) cultivados em solo sob diferentes ciclos temporais de colheita de cana sem queima / André Luiz Oliveira de Francisco; orientador José Lavres Junior -- Piracicaba, 2013.

88 p.: il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Feijão 2. Genótipos 3. Micorriza 4. Nutrição vegetal 5. I. Título

CDU 631.811: 631.466

## **DEDICO**

A Deus e aos meus mentores e protetores espirituais que tanto me ajudaram e me mantiveram no caminho certo. Aos meus pais que fizeram de tudo para garantir minha criação e o que sou hoje.

A minha esposa Kairone por todos os momentos que vivi e viverei ao lado dela durante a minha vida.

**OFEREÇO**



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao professor José Lavres Junior pela orientação, paciência, ensino, comprometimento e apoio durante todo o percurso.

Agradeço a professora Siu Mui Tsai pelo apoio constante, incentivos incondicionais e conhecimento oferecido.

Aos professores Cássio A. H. Abreu, Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso pelo apoio conselhos e abertura de seus laboratórios para minhas análises.

A técnica Cleusa Pereira Cabral pela ajuda constante e incondicional, conselhos, experiência de vida e conhecimento, uma amiga que deixo no CENA.

A técnica Denise L. C. Mescolotti pela ajuda na parte de micorrizas, conselhos, experiência e conhecimento na área, uma amiga que deixo na ESALQ.

A técnica Henriqueta e ao técnico Wagner Picinini pela constante ajuda e conselhos durante o projeto, experimentos e análises.

Aos pesquisadores que conheci na reta final da pesquisa, mas que me motivaram e ajudaram muito frente às dificuldades, Laíse da Silveira Pontes do IAPAR e Vanderly Porfírio da EMBRAPA-CNPQ.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP pela possibilidade, estrutura, pessoal, dentre muitas outras qualidades fornecidas viabilizando a realização da minha pesquisa e conclusão da minha dissertação.

A Escola Superior Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, sempre ao lado, com pessoal e estrutura dispostas a ajudar possibilitando cooperação e ajuda a minha pesquisa e conhecimento.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR, que apareceu de repente no contexto do meu mestrado (onde hoje faço parte de seu corpo de servidores), pela liberação e apoio para término desta pesquisa.

Ao CNPQ pela disponibilização da bolsa que sustentou a mim e minha esposa e financiamento junto ao projeto maior ao qual fiz parte, ao qual foi fundamental para realização das pesquisas e análises.

Ao Instituto Agronômico de Campinas e principalmente ao pesquisador Sergio Augusto Morais Carbonell pela indicação dos genótipos, disponibilização de sementes e conselhos para a pesquisa.

Aos Amigos André Luis Trombeta, Bruno Zanchim, Camila Vieira, Carolina Façanha Wendel, Cintia Avalhães, Elcio Pereira dos Santos, Fernando Giovannetti de Macedo, José Carlos Poppl, Keyla Boralli, Laura Windlin, Luiz Tadeu Jordão, Mateus Donegá, Raphael Garrone, Renato Lopes, Rosenildo Sousa França, Sara Leita, Saulo Castro, Vivian Braga, Aline Grella de Campos, e em especial a Cristiane Prezotto, Thiago Nogueira, Luiz Henrique Marcandalli e Riviane Albuquerque Donha. Todos os quais tivemos momentos ótimos, de descontração e concentração também, de companheirismo, sempre compartilhando conhecimentos e experiências que ficaram para nossas histórias.

Os amigos que a vida pode me proporcionar conhecer, em Ponta Grossa, doutorandos Tiago Baldissera e Gederson Buzzelo e a pós-doutora Betina Cunha, dentre outros que me motivaram e ajudaram muito frente aos novos desafios, mostrando que focar no termino da etapa anterior era fundamental.

O meu primeiro estagiário, ao qual considero que também orientei (co-orientador), Nicolas Braga Casarin, pelos momentos de ajuda, conversa e descontração.

**E a todos mais que de alguma forma contribuíram a minha pesquisa, mesmo de forma ínfima, acreditando naquele momento de ajuda ou na minha pessoa e me possibilitaram concluir esta dissertação.**

Não te omitas, na hora da provação!  
Se te reconheces em momentos de crise, com severas responsabilidades nos ombros, permanece nos encargos que o mundo te entregou, efetuando o melhor nas tuas possibilidades de servir e aguarda o tempo. É provável que imagines que a carga das obrigações é pesada demais, que o fracasso te espera a qualquer momento, que talvez te vejas em lugar errado ou que as circunstâncias te proclamem a incapacidade, na medida em que os obstáculos se ampliam. No entanto, aceita corajosamente as atribuições que se te confere ao espírito e segue adiante!

**Emmanuel por Chico Xavier**

É realmente verdade que gratidão gera gratidão e lamúria gera lamúria. Isto acontece porque o coração agradecido comunica-se com Deus, e o queixoso relaciona-se com Satanás. Assim, quem vive agradecendo, torna-se feliz; quem vive se lamuriando, caminha para a infelicidade. A frase "Alegrem-se que virão coisas alegres", expressa uma grande verdade.

**Alicerce do Paraíso - 13ª Edição**

## RESUMO

Francisco, A. L. O. **Estado nutricional e micorrização em genótipos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) cultivados em solo sob diferentes ciclos temporais de colheita de cana sem queima.** 2013. – f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

A cultura da cana é uma das principais culturas agrícolas do Brasil, com significativa importância sócio econômica. A colheita de cana sem despalha a fogo (cana crua) promove diversas alterações nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, principalmente pelo aumento da quantidade de matéria orgânica, aportada ao longo do tempo. Objetivou-se avaliar a quantidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) no solo, antes do experimento, aos 45 dias após a semeadura (estádio fenológico R1) e ao final do ciclo da cultura (estádio fenológico R7), estimar a massa de matéria seca das folhas, caule e raízes aos 45 e 90 dias após a semeadura, determinar a micorrização, a atividade da fosfatase ácida (FA) no solo rizosférico, nas folhas e raízes e a atividade da redutase do nitrato e da urease nas folhas aos 45 dias após a semeadura, bem como quantificar os teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e enxofre (S) na rizosfera e no solo após o cultivo das plantas (45 e 90 dias após a semeadura) e determinar os acúmulos (absorção) destes nutrientes na planta em três genótipos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), IAC-Alvorada, IAC-Pérola e BRS-Estilo, cultivados em vasos contendo solo oriundo de áreas com diferentes tempos de manejo de colheita de cana sem despalha a fogo (três e nove anos consecutivamente de colheita sem despalha a fogo – S3 e S9) e solo de mata nativa - SM (controle). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, empregando-se esquema fatorial 3x3 (três genótipos e três condições de fertilidade química do solo), com seis repetições. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para a micorrização e a quantidade de esporos aos 45 dias após a semeadura. Os tratamentos com SM e S9 apresentaram as maiores quantidades de esporos em relação ao S3. Porém, aos 90 dias após a semeadura das plantas, os solos dos tratamentos S3 e S9 apresentaram as maiores quantidades em relação ao SM. A atividade da FA na

rizosfera dos três genótipos foi maior no SM. A atividade da FA determinada nas folhas também foi maior nas plantas cultivadas no SM e menores no S9. Por outro lado, os maiores valores para atividade da FA efetuada na raiz foram observados no manejo S3. As maiores atividades da RN e da urease foram observadas nas plantas do tratamento S9 e as menores nas plantas do tratamento SM. As plantas cultivadas no S9 mostraram os maiores resultados para massa da matéria seca de folhas e caules, não observando-se diferença significativa para a produção de matéria seca de raízes, aos 45 dias após a semeadura. As maiores produções de biomassa de raízes dos genótipos foram observadas aos 90 dias após a semeadura, no tratamento SM. Os maiores acúmulos de nutrientes foram observados nos genótipos cultivados no S9. Conclui-se de modo geral que, independente do genótipo cultivado, as variáveis respostas foram mais significativas e favorecidas pela prática conservacionista de manejo do solo com colheita de cana sem despalha a fogo, por 9 anos.

Palavras Chave: Fosfatase ácida. Micorriza arbuscular. Redutase do nitrato. Urease.

## ABSTRACT

Francisco A. L. O. **Nutritional status and mycorrhization of common bean genotypes grown on soil under different harvesting temporal cycles of sugarcane without burning.** 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

The cultivation of sugar cane is one of the main crops in Brazil, with significant socio-economic importance. The cane harvest without straw removal fire (sugarcane) promotes several changes in physical, chemical and biological soil properties, primarily by increasing the amount of organic matter (OM) along the time. This study aimed to assess the amount of spores of mycorrhizal fungi (AMF) in soil before the experiment, 45 days after sowing (at the phenological stage R1) and the end of the crop cycle (at the phenological stage R7), to evaluate the dry mass of leaves, stems and roots at 45 and 90 days after sowing, determine the AMF, the acid phosphatase activity (FA) in the rhizosphere soil, in the leaf and root, as well as to quantify the activity of nitrate reductase and urease taken in the leaves at 45 days after sowing, to quantify the levels of nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K) and sulfur (S) in the rhizosphere and in the soil after plants cultivation (45 and 90 days after sowing) and, finally, to determine the accumulation (absorption) of these nutrients in the three genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.), IAC-Alvorada, IAC-Pérola and BRS-Stilo, grown in pots containing soil from areas with different times of sugar cane harvest without straw removal by fire (three or nine years of harvest without straw removal by burning - S3 and S9) and native forest soil - SM (control). The experimental design was a randomized block, using a factorial 3x3 (three genotypes and three conditions of soil fertility), with six replicates. There was no significant difference between treatments for the number of mycorrhizal spores evaluated at 45 days after sowing. Treatment with SM and S9 showed the highest amounts of spores in relation to S3. However, at 90 days after plant emergence, it was observed the highest amounts of spores in the soil treatments S3 and S9 in relation to the SM. The FA activity in the rhizosphere of the three genotypes was higher in the SM treatment. The activity of FA taken in the leaves was also higher in plants grown in SM and lower in S9. On the other hand, the highest values for the activity performed at the root of the FA were observed on the

treatment S3. The higher activities of the RN and urease were observed in the genotypes from treatment S9 and lower in the plants from treatment SM. The highest results for dry matter of the leaves and stems were observed to S9 treatment, However there were no significant difference for root dry matter yield of the genotypes at R1. Besides, the highest dry matter yield of roots was observed at 90 days after sowing in the SM treatment. The highest concentrations of nutrients were observed in genotypes grown in S9. We conclude that in general, regardless of genotype evaluated in this study, that the plant variables were more significant favored by soil management conservation practice with cane harvest without straw removal by fire for 9 years.

Keywords: Acid phosphatase. Arbuscular mycorrhiza. Nitrate reductase. Urease.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
3.1 Condução do experimento e delineamento estatístico .....	27
3.2 Coleta, amostragem e análises química e física do solo.....	28
3.3 Espécies utilizadas na experimentação .....	30
3.4 Análise do solo da rizosfera .....	30
3.5 Atividade da urease nas folhas .....	31
3.6 Atividade da redutase do nitrato nas folhas.....	31
3.7 Atividade da fosfatase ácida nas folhas e nas raízes.....	32
3.8 Atividade da fosfatase ácida no solo rizosférico.....	32
3.9 Preparo de amostras de tecido vegetal para determinação da concentração de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre e massa de matéria seca.....	32
3.10 Composição de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre do tecido vegetal.....	33
3.11 Acúmulo de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre na planta .....	34
3.12 Contagem de esporos de fungo micorrízico arbuscular .....	34
3.13 Colonização do fungo micorrízico arbuscular.....	34
3.14 Análise dos resultados .....	35
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
4.1 Quantificação de esporos e colonização de micorriza arbuscular.....	36
4.2 Atividade da fosfatase ácida no solo .....	39
4.3 Atividade da fosfatase ácida no tecido vegetal.....	41
4.4 Atividade da redutase do nitrato no tecido vegetal.....	43
4.5 Atividade da urease no tecido vegetal.....	46
4.6 Massa da Matéria Seca.....	48
4.7 Acúmulo de macronutrientes na planta .....	51
4.8 Análise da fertilidade química do solo .....	55
4.9 Análise da fertilidade química do Solo de rizosfera do feijoeiro .....	63
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>67</b>
<b>7 APÊNDICE A – FOTOS DO EXPERIMENTO.....</b>	<b>78</b>

**8 APÊNDICE B – FOTOGRAFIAS DE MICORRIZA ARBUSCULAR.....86**

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) e o maior exportador mundial dos seus principais produtos, o etanol e o açúcar, os quais correspondem a 35% do total exportado mundialmente (AGRIANUAL, 2009). O aumento das necessidades de etanol e açúcar pelo mercado e as pesquisas promissoras para aumento da produção de biocombustíveis e outros compostos/produtos, utilizando subprodutos da cana (biopolímeros, energia elétrica, dentre outros), impulsionam o aumento constante de área da cultura da cana no Brasil e no mundo.

Atualmente existem dois métodos principais de manejo da colheita da cana, com queima e sem queima (despalha sem fogo). A cana colhida sem despalha a fogo oferece diversos benefícios ao solo, principalmente proporcionando o aumento no aporte de matéria orgânica e a cobertura deste. O manejo da colheita sem queima aumenta a conservação do solo, proporcionando a preservação da biologia do solo e da matéria orgânica no sistema, além de favorecer a ciclagem de nutrientes e reduzir alterações nos processos físicos e químicos do solo gerados pela queima de material orgânico/vegetal na superfície do solo, alterando as fertilidades química, física e biológica.

A matéria orgânica é fonte de diversos nutrientes vegetais liberados ao solo durante sua decomposição e favorece maior atividade da microbiota do solo, dentre estes, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

Nos ecossistemas naturais, ou naqueles com perturbação antrópica, de regiões tropicais (caracterizados pela predominância de solos intemperizados) a baixa disponibilidade de nutrientes vegetais, notadamente o nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e enxofre (S), e alta disponibilidade de alumínio ( $Al^{3+}$ ), ferro ( $Fe^{2+}$ ) e manganês ( $Mn^{2+}$ ) constituem-se nos principais fatores limitantes da produtividade das culturas de interesse agrônomico. Assim, sob condições adversas do solo, diversas plantas adaptadas a ambientes específicos têm desenvolvido vários mecanismos que influenciam as condições de interface entre o solo e as raízes, favorecendo a aquisição de nutrientes. Deste modo, a influência relativa destes processos na aquisição dos elementos químicos (nutrientes) do solo pode diferir de

acordo com as espécies vegetais e os cultivares. Diversas estratégias fisiológicas e bioquímicas vegetais têm sido relatadas no aumento da eficiência nutricional e aquisição de nutrientes, como por exemplo, modificações químicas na rizosfera, mudanças nas características fisiológicas das plantas quanto à absorção de nutrientes, alterações nos processos bioquímicos das plantas e interações com microorganismos, especialmente nas fases iniciais de crescimento das plantas, caracterizadas pela significativa formação de aparato enzimático vegetal.

Existe a necessidade de maiores pesquisas quanto ao assunto demonstrando o impacto dessa matéria orgânica em diferentes estádios de decomposição (tempos de acúmulo) na qualidade e atributos do solo, demonstrando os reais benefícios da colheita da cana sem queima para despalha ao longo do tempo, principalmente avaliando os efeitos na nutrição de plantas e na biologia do solo, notadamente quanto à presença de FMA, as quais podem aumentar a eficiência de absorção destes elementos essenciais pelos vegetais. Neste sentido, o conhecimento conjunto das boas práticas de manejo dos solos, do manejo varietal, bem como dos mecanismos que influenciam aquisição dos nutrientes pelos vegetais podem favorecer a identificação de características genotípicas desejáveis em programas de melhoramento genético para liberação de plantas mais adaptadas às condições adversas do solo, com implicações significativas na conservação dos solos e dos ecossistemas, e na economia de recursos naturais finitos, como o P e o K.

Partindo do pressuposto que o aumento da matéria orgânica dos solos de canaviais, favorecido pela manutenção de material vegetal na superfície do solo, poderá contribuir para a maior disponibilidade de nutrientes tanto para os genótipos de feijoeiro quanto para o FMA, pretende-se investigar a contribuição de uma cronosequência de três e nove anos de colheita de cana sem despalha a fogo na nutrição de três genótipos de feijão, na dinâmica da micorrização da planta de feijão e na fertilidade dos solos com colheita sem despalha a fogo, em relação ao mesmo solo de área de mata nativa, visto que, ainda pouco se sabe acerca da contribuição desta simbiose.

Objetivou-se avaliar a micorrização e a quantidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), quantificar a atividade da fosfatase ácida nas raízes e no solo de rizosfera, estimar a massa de matéria seca das folhas, caule, raiz e grão, bem como determinar a atividade da redutase do nitrato, da urease e da

fosfatase ácida nas folhas, os teores de N, P, K e S, no solo após do cultivo (45 e 90 dias após a semeadura) e na rizosfera das plantas e os acúmulos (absorção) de N, P, K e S em três genótipos (IAC-Alvorada, IAC-Pérola e BRS-Estilo) de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivados em vasos contendo solo oriundo de áreas com diferentes tempos de manejo de colheita de cana sem despalha a fogo (três e nove anos consecutivos de colheita sem despalha a fogo – S3 e S9) e de solo de mata nativa - SM (controle).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A cana de açúcar (*Saccharum* spp.) é uma gramínea originária da Nova Guiné, sendo uma planta de clima tropical-subtropical. Os fatores ambientais, principalmente temperatura, luminosidade e disponibilidade hídrica, exercem significativa influência na qualidade do produto agrícola e no sistema produtivo da cana. O metabolismo fotossintético da cana é C4, oferecendo maior eficiência no aproveitamento da luz, água e nitrogênio (N) em relação às plantas com o metabolismo C3. Segundo SEGATO et al. (2006) a cana apresenta grande eficiência fotossintética e na assimilação de carbono, conferindo por sua vez, maior capacidade de produção de biomassa.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana e o maior exportador mundial dos seus principais produtos, o etanol e o açúcar, os quais correspondem a 35% do total exportado mundialmente (AGRIANUAL, 2009). Atualmente a produção mundial de cana ultrapassa 1,55 bilhões de toneladas e a área mundial destinada ao cultivo ultrapassa os 22 milhões de hectares (AGRIANUAL, 2009). Segundo estimativas da CONAB (2011) o Brasil possui área destinada ao plantio da cultura superior a 8 milhões de hectares e produção aproximada de 642 milhões de toneladas, com significativo crescimento no decorrer dos anos mais recentes. O estado de São Paulo é responsável por cerca de 50% da área cultivada no país (4,45 milhões de ha) e o maior produtor de etanol e açúcar do Brasil (CONAB, 2011).

O manejo da colheita da cana apresenta dois métodos principais, com queima e sem queima (sem despalha a fogo ou cana crua) na atualidade. O manejo com queima da cana tem como objetivo facilitar o manejo da colheita, reduzindo a quantidade de impurezas na cana e a palhada no sistema de cultivo, bem como aumentar o controle fitossanitário (CERRI et al., 2007; MIRANDA et al., 2008). Contudo, o sistema de colheita com despalha a fogo das plantas apresenta diversos problemas, como a geração de gases do efeito estufa e danos diversos ao solo e ao meio ambiente (CERRI et al., 2004; SEGATO et al., 2006; 2007; LUCA et al., 2008). A cana colhida sem despalha a fogo oferece diversos benefícios ao solo, principalmente por proporcionar o aumento no aporte de matéria orgânica e a cobertura deste (CERRI et al., 2007; MIRANDA, et al. 2008), bem como a própria

preservação do solo, pois não havendo a queima de material vegetal na superfície do solo, há maior preservação da biologia do solo, diminuição na perda de nutrientes e de alterações nos processos físicos e químicos do solo (SEGATE et al., 2006).

NOBLE et al. (2003), avaliando as mudanças em atributos químicos do solo, como acúmulo de carbono, proporcionadas durante manejo com e sem queima durante o período de 6 a 9 anos de cultivo de cana, demonstraram aumento de 4 Mg ha de carbono nos manejos sem queima em comparação com os manejos com queima da palha. Neste contexto, foi decretada por lei nacional a gradativa diminuição nas queimadas dos canaviais, até o ano de 2021 e no estado de São Paulo, este prazo se estenderá até 2018 (UNICA, 2013). Contudo, na região de Piracicaba, a maior parte das áreas de cana já é colhida sem despalha a fogo.

A cultura da cana é responsável por grande quantidade de material vegetal residual (matéria orgânica) durante o manejo de colheita, produzindo, segundo dados do IPCC (1995), cerca de 11% do total do material vegetal residual no mundo (inclui-se o bagaço, palhada e outros resíduos durante o processo produtivo e de transformação). Na atualidade este montante deve seguramente ter crescido devido à diminuição da queima no manejo e aumento considerável das áreas de produção no Brasil e no mundo.

A matéria orgânica deixada no manejo de colheita da cana sem queima promove diversas alterações nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo, proporcionando maior estabilidade nos agregados do solo e maiores taxas de infiltração da água neste (GRAHAM et al., 2002), mudanças na temperatura e capacidade de retenção de umidade do solo (DOURADO-NETO et al., 1999; LUCA et al. 2008). A matéria orgânica proporciona ao solo mudanças como o aumento da capacidade de troca catiônica, atividade microbiana, aeração, mineralização dos nutrientes e substâncias químicas, além de proporcionar adsorção de substâncias muitas vezes prejudiciais ao ambiente (ex. pesticidas) e aumentar a capacidade tampão do solo. Por apresentar grande influência nos atributos do solo, (físicos, químicos e biológicos) a matéria orgânica vem sendo utilizada como indicador de qualidade deste e de sustentabilidade dos ambientes agrícolas (SANTOS et al. 2008).

A adição de matéria orgânica proporciona aumento na quantidade de nutrientes vegetais no solo, observando-se maior disponibilidade principalmente de

nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), os quais são mais acumulados nos tecidos vegetais das plantas e que, posteriormente, após decomposição, são disponibilizados no solo (PAVINATO; ROSOLEM, 2008). A matéria orgânica, contudo, não disponibiliza aos solos apenas nutrientes, havendo também liberação de ácidos orgânicos e outras substâncias, as quais fazem parte do tecido vegetal vivo ou tem origem no processo de decomposição destes. As substâncias liberadas pela matéria orgânica tem diversas características que modificam os atributos químicos do solo, proporcionando maior disponibilidade de nutrientes, aumento de sítios de adsorção, complexam elementos e nutrientes, dentre outros processos químicos no solo (PAVINATO; ROSOLEM, 2008; SANTOS et al., 2008).

Segundo PAVINATO e ROSOLEM (2008), os ácidos orgânicos liberados pela matéria orgânica complexam elementos tóxicos como o  $Al^{3+}$ , metais pesados e também alguns nutrientes como  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $Mn^{2+}$ , em função do pH do solo, proporcionando melhoria na qualidade do solo. Os ácidos orgânicos, em valores de pH acima de 3,5, proporcionam competição por sítios de adsorção de ânions proporcionando a dessorção de ânions fosfato, fluoreto, molibdato e suas formas conjugadas, aumentando a disponibilidade destes para a planta. A competição dos sítios de adsorção pelos ácidos orgânicos, principalmente os de baixa massa molecular, diminui a adsorção de  $H_2PO_4^-$  aos complexos de argila do solo alterando o equilíbrio de armazenamento do nutriente no solo, em favor da maior liberação do P, este altamente retido nos complexos coloidais e sesquióxidos de Fe e Al.

A atividade microbiana do solo aumenta com adição da matéria orgânica proporcionando aumento de processos bioquímicos que melhoram a qualidade do solo como a retenção de metais e elementos possivelmente prejudiciais as plantas, aumento da atividade de enzimas no solo, alteração do pH do solo, maior liberação de nutrientes à planta e melhoria da qualidade da rizosfera (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006). Maiores quantidades de matéria orgânica, segundo CARDOSO et al. (2010), proporcionam maior micorrização e conservação dos esporos no solo.

A cultura do feijão desempenha papel importante no cenário das principais atividades agrícolas do Brasil, em função da sua extensa área cultivada e valor socioeconômico. O feijão é uma das principais fontes de proteínas alimentícias da população brasileira, principalmente a de baixa renda (YOKOYAMA et al., 1996;

ABREU, 2004; NETO; FANCELLI, 2007), contendo substâncias antioxidantes e altos teores de fibras (ABREU, 2004; NETO; FANCELLI, 2007). O Brasil é o maior produtor mundial de feijão, com área plantada total de cerca de 3,8 milhões de hectares, no ano de 2011 e com produção aproximada de 3,79 milhões de toneladas (CONAB, 2011). O estado do Paraná é o maior produtor do grão, seguido por Minas Gerais, Santa Catarina e São Paulo (CONAB, 2011).

O feijoeiro apresenta considerável dependência dos fatores, climáticos, principalmente da temperatura, precipitação e intensidade de luminosidade (NETO; FANCELLI, 2007; BARBOSA et al., 2009). A planta de feijão apresenta portes diversos dependendo da sua variedade, contudo seu sistema radicular tem desenvolvimento superficial, proporcionando diversos problemas, principalmente relacionados a estresse hídrico e aquisição de nutrientes, sendo considerada uma planta exigente em nutrientes (ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994).

A fertilidade química composta pelas propriedades físico-químicas do solo, como a troca catiônica, a troca aniônica e a adsorção de elementos, exercem grande influencia na disponibilidade dos nutrientes, desempenhando grande efeito na produtividade agrícola (MALAVOLTA, 2006). Diversos fatores no solo governam estas propriedades, dentre eles a matéria orgânica, teor de argila, microbiota do solo, dentre outros fatores.

O N é elemento essencial para o desenvolvimento vegetal, participando de diversas atividades metabólicas, como a respiração, atividade de enzimas, fotossíntese, síntese de aminoácidos e carboidratos, dentre outros (MARSCHNER, 1995; MENGEL; KIRKBY, 2001). Pode ser absorvido em diversas formas pela planta (orgânicas e inorgânicas), contudo predominam as formas de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ). O nitrato absorvido pela planta é reduzido a amônio através de processo enzimáticos por meio de ação sequencial da enzima redutase do nitrato e nitrito redutase, sendo este processo passível de realização em qualquer órgão da planta. Por sua vez, o amônio absorvido é rapidamente metabolizado, via GS/GOGAT, e incorporado na forma de aminoácidos e proteínas.

No feijoeiro o N é o nutriente mais exigido, proporcionando alta resposta à sua aplicação, em condições de baixa disponibilidade e de matéria orgânica no solo, apresentando significativa influência no rendimento produtivo da cultura (OLIVEIRA et al., 1996; NETO; FANCELLI, 2007). Porém, com o suprimento de nitrogênio

atmosférico ( $N_2$ ) à planta de feijão, esta realiza em sua rizosfera a fixação biológica de nitrogênio, mediante associação com bactérias do gênero *Rhizobium*, a planta detém fonte de N para seu crescimento. Todavia, esta associação não é suficiente para suprir toda a demanda do nutriente, sendo ainda necessária a adição de fertilizantes (OLIVEIRA et al., 1996).

O P apresenta significativa importância na planta, participando de diversas atividades metabólicas, principalmente relacionadas à produção de energia, sinalização celular, síntese de aminoácidos, ácidos nucléicos e carboidratos, dentre outras (MENGEL; KIRKBY, 2001). Em condições de deficiência, promove grandes danos à planta, principalmente na fase de estabelecimento, crescimento do sistema radicular e na fase de reprodução (STAUFFER; SULEWSKI, 2004). O fósforo é o nutriente mais estudado na cultura do feijão, havendo grande resposta da cultura para a sua aplicação (NETO; FANCELLI, 2007). Esse nutriente apresenta necessidade de atenção constante pela superficialidade do sistema radicular do feijoeiro, fato este agravado pela presença de solos ácidos, extremamente argilosos e com pouca matéria orgânica (OLIVEIRA, 1996; NETO; FANCELLI, 2007).

O principal problema quanto à disponibilidade do P para as culturas diz respeito à sua dinâmica no solo, principalmente com relação à adição de fertilizantes fosfatados (BRADY, 1989; MALAVOLTA, 2004). Isso se deve as diversas propriedades físico-químicas do solo, como a forças iônicas, pH do solo (substrato), adsorção a óxidos de ferro e alumínio, dissolução/precipitação de minerais carreadores de fósforo e principalmente a adsorção de fósforo às argilas do solo, as quais concorrem para disponibilidade do nutrientes (MARSCHNER, 1995; HINSINGER, 2001; RAIJ, 2004 MALAVOLTA, 2006). Contudo associações simbióticas junto ao fungo micorrízico arbuscular (FMA) são de grande ocorrência na rizosfera da planta de feijão, podendo favorecer à maior disponibilização e absorção do elemento.

Por sua vez, o K na planta participa de diversos processos metabólicos como ativador e regulador de enzimas, controle de potencial osmótico celular, na redistribuição de fotoassimilados, além de participação na fotossíntese (abertura e fechamento dos estômatos) e síntese de carboidratos (MALAVOLTA, 2006; FERNANDES et al., 2006; HAWKESFORD et al. 2010). Na planta é encontrado predominantemente na forma de cátion, íon  $K^+$ , podendo ser facilmente redistribuído

na planta, entre diversos órgãos (TAIZ; ZEIGER, 2006). A cultura do feijão tem apresentado resposta à adubação com K, principalmente quando se deseja alto desempenho desta. (OLIVEIRA et al., 1996).

O S na planta é componente essencial de todas as proteínas e aminoácidos, como a cistina, cisteína e metionina. Os grupos químicos formados pelos S nas diversas estruturas nas quais está inserido proporcionam capacidade de reações e alterações bioquímicas essenciais ao funcionamento fisiológico da planta (MALAVOLTA, 2006; HAWKESFORD et al., 2010). A matéria orgânica é uma das principais fontes de S ao solo (OLIVEIRA et al., 1996). Na cultura do feijão a deficiência de S não é muito observada, contudo em áreas de cultivo sucessivo existe a necessidade de atenção quanto aos níveis deste elemento no solo, o que muitas vezes explica o fato do feijão ser uma planta responsiva à adubação com S (ROSOLEM; MARUBAYASHI, 1994).

Métodos enzimáticos em tecidos vegetais vêm sendo utilizados para avaliações referentes à participação do elemento (nutriente) no metabolismo vegetal e, neste sentido, têm sido utilizados como ferramenta auxiliar na avaliação do estado nutricional das plantas. MALAVOLTA et al. (1997), contudo, destacam que ainda está distante o uso de técnicas bioquímicas para fins de determinação rotineira, sendo estas com uso ainda restrito a pesquisas e determinações para proposta de recomendações agrícolas.

As enzimas redutase do nitrato e uréase são enzimas consideradas indicadoras do estado nutricional da planta para o N, as quais estão diretamente relacionadas aos processos de assimilação do N em aminoácidos e proteínas. A uréase está presente em toda a planta sendo a enzima responsável pela quebra da uréia em  $\text{NH}_3$  e  $\text{CO}_2$ , elemento tóxico a planta quando em concentração elevada, a qual pode ser proveniente de metabolismo/processos no apoplasto dos tecidos, quebra de aminoácidos diversos, degradação de DNA e RNA, degradação de diversas enzimas e proteínas estruturais, dentre outros processos de reciclagem de N na planta (WANG et al 2008; MARSCHNER, 1995). A uréia produzida pelos processos de degradação protéica na planta pode ser armazenada nos vacúolos para futuro uso (reserva de N na planta - arginina) ou em sequência ser metabolizada pela uréase gerando amônio e gás carbônico, voltando assim para o ciclo de assimilação de N na planta como amônio (WITTE, 2011). A redutase do

nitrito está envolvida na redução assimilatória do  $\text{N-NO}_3^-$  à nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ), sendo que a sua atividade é influenciada, além da luminosidade e da temperatura, pela concentração de  $\text{NO}_3^-$  no substrato (MENGEL; KIRKBY, 2001).

A fosfatase ácida é considerada uma das principais enzimas relacionadas ao ciclo do P nas plantas, sendo esta responsável pela quebra em qualquer estrutura bioquímica do P-orgânico (remobilização), liberando este P para utilização em qualquer outra via metabólica de imediato. (HAWKESFORD et al., 2010). A atividade da fosfatase ácida é governada pelos níveis de P no citoplasma, onde estes, quando em altos níveis/concentração inibem a atividade da enzima. Assim todo e qualquer processo que promova a diminuição da absorção ou transporte de P na planta induz o aumento da atividade da fosfatase, como, por exemplo, o estresse hídrico. A fosfatase ácida está presente em toda a planta, contudo, o principal local de estudo da sua atividade tem sido as folhas e as raízes. Segundo BESFORD (1979) a atividade da fosfatase ácida pode ser utilizada como indicador bioquímico de deficiência de P na planta. Em experimentos realizados por FERNANDEZ et al. (1994) foi verificada correlação negativa entre a atividade da enzima fosfatase ácida e massa de matéria seca de cinco cultivares de feijão.

Em diversas espécies vegetais tem se observado aumento na atividade da fosfatase ácida nos tecidos vegetais e sua exsudação na rizosfera em resposta à deficiência de P no ambiente, (RICHARDSON et al., 2005; NURUZZAMAN et al., 2006). O potencial de ciclagem do nutriente P pela fosfatase ácida exsuda pelas raízes é alto, sendo que segundo pesquisas de RICHARDSON et al. (2000), em ambiente estéril com apenas adubação orgânica, foram verificados altos valores da atividade da enzima na rizosfera e não sendo observada deficiência de P na planta.

As enzimas presentes no solo apresentam grande importância para avaliação da fertilidade química e biológica do solo, sendo juntamente com a biomassa microbiana, a diversidade microbiana e a meso e macrofauna os principais bioindicadores para análise da qualidade do solo, as quais podem ser ajustadas à maioria dos critérios para seleção de indicadores de qualidade do solo. Isto se deve, principalmente, a capacidade destas moléculas em responder rapidamente a mudanças derivadas de alterações no manejo do solo, e pelo fato de que a atividade microbiana do solo refletir a influência conjunta de todos os fatores que regulam a

degradação da matéria orgânica e a ciclagem e disponibilidade dos nutrientes (KENNEDY; PAPENDICK, 1995).

A atividade das enzimas do solo são bons indicadores de fertilidade do solo, contudo, devem estar relacionadas à disponibilidade dos nutrientes no substrato (ROLDÁN et al., 2003). Diversas enzimas hidrolíticas (hidrolases) vêm sendo utilizadas em larga escala para observação de qualidade do solo e quantificação de perturbação, devido ao fato de serem altamente sensíveis a mudanças no sistema, apresentarem rápida resposta a mudanças, pela facilidade de observação e análise, além de custo baixo em relação aos demais métodos, com precisão considerável (KANDELER; EDER, 1993; BANDICK; DICK, 1999; MATSUOKA et al., 2003).

A enzima fosfatase ácida (no solo) é responsável pela quebra do P-orgânico a íon  $\text{PO}_4^{2-}$  no solo durante o processo de mineralização de compostos orgânicos advindo da matéria orgânica, sendo fundamental para a ciclagem de P no solo para aproveitamento da planta. A fosfatase ácida presente no solo tem origem principalmente na microbiota do solo e em menor escala nos exudados radiculares (TABATABAI, 1994).

A fertilidade biológica é composta pela atividade dos inúmeros organismos presentes no solo. Estes organismos são responsáveis por diversas atividades como a decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, produção e transformação de compostos, bem como são capazes de realizar associações diversas com as plantas (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006). Neste contexto é fundamental o conhecimento da fertilidade biológica e das interações entre as fertilidades, de modo a tornar mais eficiente o manejo do solo e da cultura (RAIJ, 1991).

Os microrganismos que atuam na rizosfera desempenham diversas atividades bioquímicas, favorecendo o aumento na disponibilidade de nutrientes, como o fósforo, para as plantas (BERBARA et al. 2006). Segundo SILVEIRA e CARDOSO (2004), plantas micorrizadas obtiveram aumento na taxa de absorção de P, principalmente na fase de florescimento.

A micorriza é a associação simbiótica mutualística que ocorre entre determinados fungos e as raízes de plantas, sendo o grupo mais frequente o FMA, a qual ocorre em cerca de 80% das plantas vascularizadas (GINZBERG et al., 1998).

Os FMAs são obrigatoriamente simbióticos, formando nas células corticais das raízes estruturas fúngicas denominadas arbusculos, responsáveis pela troca de nutrientes e compostos orgânicos (fotoassimilados e hormônios) entre o fungo e a planta (BONFANTE-FASOLO, 2000; SIQUEIRA; MOREIRA, 2006; RAMOS; MARTINS, 2010). Por outro lado, o FMA disponibiliza uma gama de ações benéficas, principalmente disponibilização de nutrientes de baixa mobilidade no solo, como o zinco, o ferro e principalmente o fósforo (EZETA; SANTOS, 1980; SILVEIRA, 1992; SIQUEIRA; MOREIRA, 2006), bem como maior resistência ao ataque de patógenos e pragas (BODKER et al. 1998), diminuição do estresse hídrico (SIQUEIRA; MOREIRA, 2006) e a metais tóxicos a planta (SIQUEIRA et al., 1999; DAVIES et al. 2001, SIQUEIRA; MOREIRA, 2006). As micorrizas contribuem para a melhor adaptação e desenvolvimento de plantas micropropagadas (AZCON-AGUIAR; BAREA, 1997) e melhorias nas atividades fisiológicas da planta, com estímulo a produção e acúmulo de substâncias reguladoras de crescimento e metabolitos secundários (SIQUEIRA et al., 2010).

O feijoeiro apresenta grande interação com o FMA, havendo grande número de pesquisas caracterizando esta interação. Segundo CARDOSO et al. (1992), a micorriza fornece nutrientes à planta de feijão, principalmente o fósforo, e contribui para a maior absorção de água e resistência ao déficit hídrico. A interação do fungo com o feijoeiro diminui após o início da floração, devido à fase reprodutiva da planta (CARDOSO et al. 1992; SIQUEIRA et al. 2010), na qual boa parte dos fotoassimilados são redistribuídos para os grãos (dreno forte).

O efeito benéfico mais reconhecido e estudado dos FMAs é o aumento da absorção de nutrientes relativamente imóveis no solo, em especial P, pela planta hospedeira, bem como de vários micronutrientes, como o Cu, Fe, Mn e o Zn (MARCHNER; DELL, 1994). Os fungos micorrízicos arbusculares podem absorver o P-inorgânico (Pi), tanto as formas solúveis no solo, quanto àquelas insolúveis (P ligado à Ca ou Fe), bem como a partir de fontes orgânicas insolúveis (JAVAID, 2009). Ademais, estudos recentes têm comprovado que estes fungos podem aumentar a disponibilidade da forma Pi-insolúvel por meio da acidificação da rizosfera ou pela exudação de ânions de ácidos orgânicos aniônicos que podem atuar como agentes complexantes de P. Também tem sido relatada a influência desta simbiose na nutrição em N pelas plantas (PROVOROV; BORISOV;

TIKHONOVICH, 2002; PATREZE; CORDEIRO, 2004). Neste sentido, JAVAID (2004) aventou a possibilidade desta simbiose favorecer a maior absorção e transporte à longa distância de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), em relação ao nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), mesmo que esta última seja a principal forma de N absorvida pelas plantas, nas condições de solos tropicais. Todavia, considerando que o aumento da matéria orgânica dos solos de canaviais, favorecido pela manutenção de material vegetal na superfície do solo, pode contribuir para a maior disponibilidade de  $\text{N-NO}_3^-$  e de demais macronutrientes, tanto para a planta, quanto para o FMA, pretende-se investigar a contribuição de uma cronosequência de três e nove anos de colheita de cana sem despalha a fogo na nutrição de três genótipos de feijão e na dinâmica da micorrização destas plantas, em relação ao mesmo solo de área de mata nativa, visto que, ainda pouco se sabe acerca da contribuição desta simbiose, notadamente em plantas leguminosas.

Objetivou-se avaliar a micorrização e a quantidade de esporos de FMA, quantificar a atividade da fosfatase ácida nas raízes e no solo de rizosfera, estimar a massa de matéria seca das folhas, caule, raiz e grão do feijoeiro, bem como determinar a atividade da redutase do nitrato, da urease e da fosfatase ácida nas folhas, os teores de N, P, K e S, no solo após o cultivo (45 e 90 dias após a semeadura) e na rizosfera das plantas e os acúmulos (absorção) de N, P, K e S em três genótipos (IAC-Alvorada, IAC-Pérola e BRS-Estilo) de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivados em vasos contendo solo oriundo de áreas com diferentes tempos de manejo de colheita de cana sem despalha a fogo (três e nove anos consecutivos de colheita sem despalha a fogo – S3 e S9) e de solo de mata nativa - SM (controle).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Condução do experimento e delineamento estatístico

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo, CENA/USP, em Piracicaba – SP, durante o período de fevereiro de 2012 a junho de 2012.

Cultivaram-se três genótipos de feijão comum (*Phaseolus Vulgaris* L.) em um solo com diferentes fertilidades químicas (solo de área de canavial sem despalha a fogo há três e há nove anos e solo de mata nativa), respectivamente descritos nos itens 3.3 e 3.2. Cada tratamento constou de seis repetições, totalizando 54 unidades experimentais, com os tratamentos dispostos em delineamento experimental de blocos casualizados, empregando-se o esquema fatorial 3x3 (três genótipos e três condições de fertilidade de solo).

Duas plantas de feijão foram cultivadas em vasos plásticos de 9 dm<sup>3</sup>, contendo o solo sem a aplicação de fertilizantes, de modo a preservar a fertilidade natural. Realizou-se o tratamento sanitário das sementes de feijão com hipoclorito de sódio 5% e, em seguida, efetuou-se a inoculação com bactérias fixadoras biológicas de nitrogênio (FBN) nos vasos, por meio da estirpe CN 1 *Rhizobium tropici*. Não ocorreu inoculação de espécies de micorrizas arbusculares nos solos do experimento e na área onde se coletou o solo não é realizada esta prática.

Não houve nenhum controle químico preventivo de doenças ou pragas no experimento, apenas empregaram-se em caso de diagnóstico de doenças, medidas de controle pontuais. A irrigação foi realizada manualmente com água deionizada, sendo os vasos mantidos a 80% da capacidade de campo. A casa de vegetação utilizada para o experimento detinha sistema de ventilação forçada e arrefecimento por umidade da água.

Durante o desenvolvimento do experimento, aos 45 dias após a semeadura, quando as plantas encontravam-se no estágio fenológico R1, as plantas (genótipos) de três blocos (repetições) foram colhidas e destinadas para análises bioquímicas (determinação da enzima fosfatase ácida, redutase do nitrato e urease na folha

utilizada para diagnose foliar e fosfatase ácida na raiz), nutricionais (determinação dos acúmulos de N, P, K, S na planta), análises microbiológicas (micorrização na planta e esporos no solo) e massa da matéria seca das folhas, caule e raízes. As demais plantas, das outras três repetições, foram mantidas até o fim ciclo da cultura, 90 dias após a semeadura, no estágio fenológico R7, nas quais foram realizadas demais análises nutricionais (determinação das quantidades absorvidas de N, P, K, S na planta), análises microbiológicas (esporos no solo) e massa da matéria seca das folhas, caule, raízes e grãos do experimento.

Também foram realizadas análises de solo rizosférico e dos vasos nas três repetições colhidas aos 45 dias após a semeadura (em R1) e apenas análises de solo dos vasos nas três demais repetições cultivadas até o final do ciclo da cultura (em R7).

### **3.2 Coleta, amostragem e análises química e física do solo**

O solo foi coletado em talhões predefinido de produção de cana-de-açúcar e em uma área de preservação permanente, todas pertencentes à Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio - APTA - Polo Centro Sul em Piracicaba – SP.

Foram amostrados três solos das seguintes áreas:

- a) Solo de área de cana colhida sem queima há três anos.
- b) Solo de área de cana colhida sem queima há nove anos.
- c) Solo de área de floresta nativa, pouco degradada.

As três áreas utilizadas para coleta estão próximas e estão dispostas sobre as mesmas condições ambientais e classe de solo, Latossolo Vermelho escuro distrófico. As duas áreas de cana foram anteriormente cultivadas com a mesma variedade de cana, segundo histórico da usina e APTA – Polo Centro Sul.

Realizou-se análise de solo para determinação dos atributos químicos e físicos dos solos amostrados antes da experimentação, resultados na Tabela 1, 2 e 3, e apenas dos atributos químicos logo após o cultivo das plantas de feijão em cada vaso, seguindo as metodologias apresentadas por CANTARELLA et al. (2001) para

matéria orgânica e por RAIJ e QUAGGIO (2001) para fósforo, potássio, enxofre, cálcio e magnésio. A determinação do pH, alumínio, CTC, V% e m% foram realizadas segundo metodologia descrita por QUAGGIO e RAIJ (2001).

O solo foi coletado antes da adubação e demais manejos para continuidade da produção de cana nas áreas por parte da usina, estando assim apenas com a fertilidade remanescente dos cultivos anteriores da cana-de-açúcar.

Tabela 1 - Caracterização química dos solos antes do início do experimento.

Solo	pH	MO	Al	Al+H	SB	CTC	V%	m%
		g dm <sup>3</sup>	----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			----- % -----		
SM	4,4	35	7	72	33	105	32	17
S3	5,1	32	1	34	57	91	63	2
S9	5,3	30	0	34	40	74	54	0

pH: acidez ativa em CaCl<sub>2</sub> (0,01 mol L<sup>-1</sup>). M.O.: matéria orgânica pelo método dicromato/colorimétrico. Al: alumínio trocável por titulometria. H+Al: acidez potencial por pH-SMP.

Tabela 2 – Teores dos macronutrientes e micronutrientes nos solos coletados antes do início do experimento.

Solo	P	S	Cu	Fe	Zn	Mn	B	K	Ca	Mg
	----- mg dm <sup>-3</sup> -----							----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----		
SM	7	56	1,4	17	2,1	12,4	0,32	2,3	22	9
S3	7	28	1,0	18	0,7	6,9	0,29	2,3	32	23
S9	9	26	1,5	17	1,1	15,2	0,42	1,8	21	17

P, K, Ca e Mg: extração pela resina trocadora de íons. S: (S-Total) extraído com Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> determinado por turbidimetria. Boro em água quente/microondas. Cu, Zn, Mn, Fe em extrator DTPA.

Tabela 3 – Caracterização granulométrica dos solos coletados antes do início do experimento.

Solo	Areia	Silte	Argila
	----- g kg <sup>-1</sup> -----		
SM	270	154	576
S3	260	154	586
S9	260	201	539

### 3.3 Espécies utilizadas na experimentação

No experimento foram utilizados três cultivares de feijão comum:

- a) IAC – Alvorada
- b) BRS – Estilo
- c) Pérola

Os genótipos foram escolhidos pela sua grande representatividade em áreas cultivadas no estado de São Paulo, sendo as sementes obtidas do Instituto Agrônomo de Campinas - IAC – Campinas, SP.

### 3.4 Análise do solo da rizosfera

Para determinação dos atributos químicos do solo da rizosfera foram realizadas coletas de solo aos 45 dias após a semeadura (estádio fenológico R1: início do florescimento) da planta de feijão.

As amostras foram obtidas a partir do solo residual (agregados) presente nas raízes das plantas, após breve agitação do sistema radicular, na ocasião da retirada

da planta do vaso (REIS et al., 2009). A amostra foi peneirada para separação de material vegetal remanescente (radicelas).

As análises dos solos foram realizadas segundo metodologias apresentadas por CANTARELLA et al. (2001) para a determinação da quantidade de matéria orgânica e por RAIJ e QUAGGIO (2001) para fósforo, potássio, enxofre, cálcio e magnésio. A determinação do pH, alumínio, CTC, V% e m% foram realizadas segundo metodologia descrita por QUAGGIO e RAIJ (2001).

### **3.5 Atividade da urease nas folhas**

A determinação da atividade da urease *in vivo*, conforme adaptação dos métodos descritos por McCULLOUGH (1967) e por HOGAN et al. (1983), foi efetuada nas folhas utilizadas para a diagnose foliar (terceira ou quarta folha a partir do ápice da haste principal), as quais foram colhidas no estágio R1. A incubação do material vegetal (200 mg de folhas verdes, cortadas em “fatias” de 1 mm de largura) em meio de 8 mL de tampão  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  com uréia pH 7,4, durou três horas à temperatura de 30 °C. A leitura da  $\text{NH}_3$  foi efetuada em colorímetro a 625nm. Para a determinação da atividade da urease no solo (após a incubação dos solos e na ocasião da determinação nas plantas), a  $\text{NH}_3$  capturada por meio do  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2,0N foi quantificada conforme metodologia proposta por McCULLOUGH (1967). A coleta do material vegetal foi realizada aos 45 dias após a semeadura (na ocasião do início do florescimento, estágio fenológico R1).

### **3.6 Atividade da redutase do nitrato nas folhas**

A determinação da atividade da redutase do nitrato foi realizada de acordo com a metodologia descrita por MULDER et al. (1959), na folha utilizada para

diagnose foliar, a qual foi coletada aos 45 dias após a semeadura (estádio fenológico R1).

### **3.7 Atividade da fosfatase ácida nas folhas e nas raízes**

A análise da enzima fosfatase ácida foi realizada na raiz das plantas e na folha utilizada para diagnose foliar, segundo metodologia descrita por Raposo et al. (2004), também coletada aos 45 dias após a semeadura do feijão (estádio fenológico R1). As amostras de raízes utilizadas no procedimento foram coletadas do terço médio do órgão, sendo imediatamente lavadas e armazenadas em geladeira para análise.

### **3.8 Atividade da fosfatase ácida no solo rizosférico**

A análise das fosfomonoesterases ácidas (fosfatase ácida) no solo rizosférico foi realizada com base na metodologia de Tabatabai e Bremner (1969), utilizando-se 1 grama de solo rizosférico coletado, de acordo com a descrição no item (3.4).

### **3.9 Preparo de amostras de tecido vegetal para determinação da concentração de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre e massa de matéria seca**

As análises para determinação de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e enxofre (S) nos tecidos vegetais e a massa de matéria seca nas folhas, caule e raízes foram realizadas tanto nas plantas das repetições colhidas aos 45 dias após a semeadura do feijão (estádio fenológico R1) e nas plantas ao final do ciclo do cultivo

do feijão (estágio fenológico R7), no qual também se realizou a determinação da massa de matéria seca dos grãos.

As plantas de feijão analisadas em R1 foram separadas em raiz, caule, folhas para as determinações analíticas. Por sua vez, as plantas coletadas ao final do ciclo (em R7) foram amostradas da seguinte forma: raiz, caule, folhas, e grãos.

As amostras foram inicialmente lavadas com água de torneira e em seguida em água desionizada. O material foi embalado em sacos de papel etiquetados e colocado para secar em estufa com circulação forçada de ar em temperaturas variando de 65 a 70°C, durante três dias. Tomou-se o cuidado de manter a temperatura até 70°C, de modo a evitar a perda de nitrogênio por volatilização.

Visando a determinação da massa de matéria seca, o material após seco foi pesado em balança de precisão.

A moagem foi realizada em moinhos tipo Willey, com facas e câmara de aço inoxidável e com peneiras de 1 mm de malha ou (20 *mesh*), visando assegurar a homogeneização da amostra. O armazenamento das amostras foi realizado em frascos de vidro devidamente identificados até realização das análises de composição de nutrientes.

### **3.10 Composição de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre do tecido vegetal**

A determinação da concentração de N no tecido vegetal foi realizada por meio do método de Semi-Micro Kjeldahl, após digestão sulfúrica, segundo metodologia apresentada por Malavolta et al. (1997).

Os demais nutrientes P, K e S, foram analisados após digestão nitro-perclórica dos tecidos, em que o P foi determinado por meio de método colorimétrico do metavanadato e o S pelo método de turbidimetria do cloreto de sulfato de bário. Para determinação do K realizou-se a metodologia da fotometria de chama, todos segundo metodologias apresentadas por Malavolta et al. (1997).

### **3.11 Acúmulo de nitrogênio, fósforo, potássio e enxofre na planta**

O acúmulo de N, P, K e S na planta foi calculado pela multiplicação da massa da matéria seca de cada parte da planta pela concentração do nutriente nestes tecidos, sendo o procedimento realizado aos 45 e 90 dias após a semeadura. O acúmulo total foi determinado por meio da soma dos acúmulos das partes das plantas.

### **3.12 Contagem de esporos de fungo micorrízico arbuscular**

A contagem de esporos foi realizada nos solos, dos tratamentos, em três ocasiões:

- a) Antes do cultivo do feijão.
- b) Aos 45 dias após a semeadura de feijão.
- c) Ao final do ciclo de cultivo do feijão.

As análises de esporos do fungo micorrízico arbuscular foram realizadas seguindo a metodologia de peneiramento úmido (GERDEMANN; NICOLSON, 1963), seguida de centrifugação em água e sacarose a 45% (JENKINS, 1964). Em seguida a densidade de esporos no solo foi quantificada por contagem em placa sob microscópio estereoscópico com aumento de 40X.

### **3.13 Colonização do fungo micorrízico arbuscular**

A determinação da colonização intrarradicular pelo fungo micorrízico arbuscular foi realizada por meio de coletadas de amostras do terço médio do sistema radicular das plantas, logo após a colheita aos 45 dias após o plantio do feijão. As raízes foram armazenadas em etanol 70% até realização das análises. O

conteúdo citoplasmático foi removido com KOH 10% por 60 minutos, a 90°C, e as raízes foram em seguida coradas com azul de tripano (tinta de caneta esferográfica) a 5% (v/v) de concentração, em solução de ácido acético, a 90°C por 3 minutos, sendo logo depois lavadas em ácido acético a 5% (v/v) (VIERHEILIG et al. 1998). Em seguida, foram armazenadas em solução FAA, 300 mL água destilada, 300 mL de glicerina e 300 mL de ácido acético para 900 mL de solução total, até as análises de quantificação. Utilizou-se um microscópio estereoscópio (aumento de 45 vezes) e placas reticulares para determinação da taxa de colonização, pela presença de estruturas fúngicas (hifas, vesículas, arbusculos e esporos) no tecido cortical da raiz, de acordo com metodologia proposta por Giovanetti e Mosse (1980).

### **3.14 Análise dos resultados**

Submeteram-se os resultados às análises estatísticas, utilizando-se o programa estatístico SAS - "Statistical Analysis System" (SAS, 1999). Realizou-se a análise de variância e, nos casos em que o teste F indicou diferenças significativas entre os tratamentos - os manejos de solo (SM, S3 e S9) e genótipos (cultivares) -, procedeu-se ao estudo de comparação de médias (Tukey,  $P < 0,05$ ). Os gráficos foram elaborados com o emprego do programa "SigmaPlot 10.0".

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Quantificação de esporos e colonização de micorriza arbuscular

A análise de variância demonstrou a existência de diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os manejos de solo analisados para número de esporos observados nos solos antes do experimento (Figura 2 A) e ao final deste (90 dias após a semeadura do feijão) (Figura 2 B). Contudo, não foi observada diferença entre os tratamentos (solos e genótipos) aos 45 dias após a semeadura, sendo obtida média de 175,11 esporos por 50 mL de solo.

Em geral os resultados obtidos revelaram quantidade de esporos no solo em nível considerado adequado (acima de 50 esporos por 50 mL de solo) em todas as ocasiões de análise e manejos de solo, levando-se em consideração as faixas do número de esporos encontradas em trabalhos realizados com micorriza na cultura do feijão (CARDOSO; SILVEIRA, 1987; 1988; SILVEIRA, 1990) e em cana (DAINESE; CARDOSO, 1981; REIS et al., 1999). Os dados contradizem resultados comumente encontrados para a contagem de esporos e colonização na cultura da cana, que demonstraram baixa quantidade de esporos no solo de canavial, o fato atribuído à elevada adubação fosfatada na cultura para obtenção de altas produtividades, inibindo assim a simbiose (REIS et al., 1999).

As maiores quantidades de esporos foram observadas no solo com manejo de despalha sem fogo há 9 anos em relação aos solos de mata e 3 anos de despalha sem fogo para as avaliações antes do cultivo dos genótipos de feijoeiro. REIS et al. (1999), em trabalhos pioneiros com micorriza em cultivos comerciais de cana-de-açúcar, relataram que a queimada é fator de diminuição do número de esporos de micorriza no ambiente e salientaram que a entrada de matéria orgânica no sistema influencia positivamente a esporulação e micorrização nas plantas.

Para a análise da contagem de esporos nas plantas aos 90 dias após a semeadura (estádio fenológico R7), não foi constatada diferença significativa entre os tratamentos com 3 e 9 anos de colheita sem despalha a fogo, as quais por sua vez, diferiram do solo de mata, havendo neste menor quantidade de esporos. Este

resultado pode ser explicado pelas fertilidades químicas e manejo da palhada nos solos de 3 e 9 anos de colheita sem despalha a fogo considerando os valores de pH, teores de magnésio, alumínio, dentre outros. As plantas de feijão cultivadas nos solos de 3 e 9 anos de colheita sem despalha a fogo demonstraram visualmente, durante o experimento, estarem mais vigorosas e mais desenvolvidas em relação aquelas plantas cultivadas no solo de mata (Apêndice A), o que provavelmente contribuiu para maior quantidade de fotoassimilados transferidos ao fungo, resultando no aumento do número de esporos ao final do ciclo. Outro fator que pode ter contribuído para a maior quantidade de esporos, é o fato de o feijoeiro ser uma planta altamente micotrófica, favorecendo elevada quantidade de esporos durante a simbiose (CARDOSO; SILVEIRA, 1987; CAVALCANTI, et al. 2009; SIQUEIRA et al., 2010).

Não foi verificada significância da interação entre os genótipos e manejo dos solos, bem como não foram constatados efeitos significativos dos fatores isolados (genótipo e manejo do solo) para o número de esporos avaliados aos 45 dias após a semeadura (no estágio fenológico R1). O fato se deve ao aumento do número de esporos no solo de 3 anos de cana sem despalha a fogo, mediante a melhor nutrição da planta de feijão e conseqüentemente melhor desenvolvimento do fungo. O mesmo não ocorrendo no solo de mata, este com baixa fertilidade, resultando em uma planta com menor capacidade de suportar a simbiose.

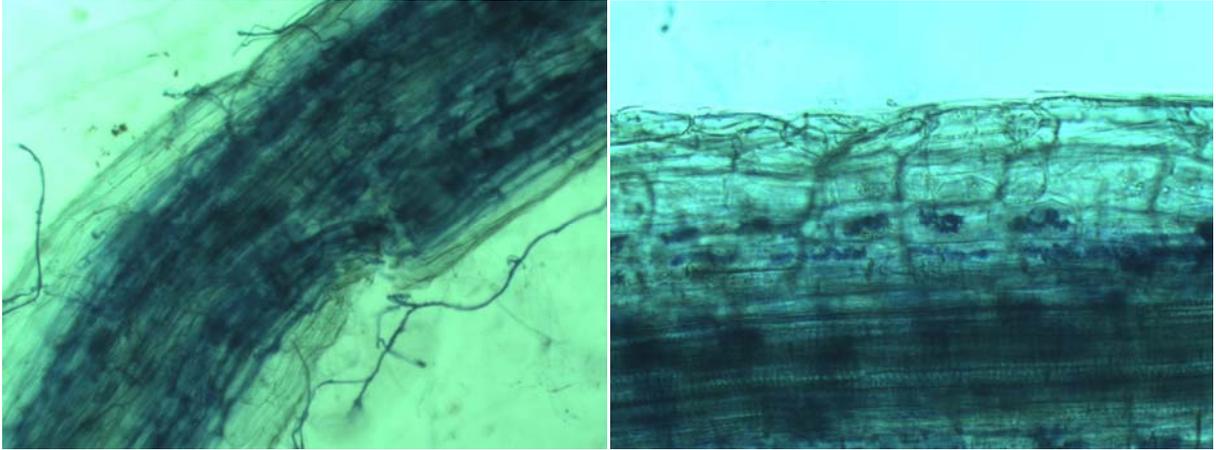


Figura 1 – À direita foto de arbusculos e hifas de FMA em raiz de planta de feijão cultivada no experimento durante determinação de micorrização. À esquerda hifas, arbusculos e vesículas de FMA em raiz de planta de feijão cultivada no experimento em mesma análise da anterior.

Não se constatou diferença significativa para a avaliação da colonização de micorriza arbuscular, a qual foi em média de 59% da colonização entre os manejos de solo. Todas as amostras vegetais analisadas apresentaram colonização na epiderme, havendo a presença geral dos órgãos de importância da micorriza nas amostras (vesículas e arbusculos). De acordo com CARDOSO e SILVEIRA (1987) esta taxa de micorrização é considerada mediana para a cultura do feijoeiro, sendo os resultados, provavelmente, em razão do alto número de esporos inicialmente presentes no solo das três áreas utilizado neste estudo. Pode-se considerar também os baixos teores de P disponível no solo, favoreceram a micorrização (CARDOSO et al., 2004, SIQUEIRA; MOREIRA, 2006, SIQUEIRA et al., 2010) e acúmulo de matéria orgânica em todos os manejos, mesmo ainda pequena no solo oriundo de área de 3 anos de colheita sem despalha a fogo. Outro fator que pode ter contribuído para a maior colonização micorrízica foi o maior teor de umidade no solo, assegurado pela palhada em todos os sistema, como discutido por LINGFEI et al. (2005). Estes autores verificaram correlação positiva entre o aumento de umidade do solo e a colonização de micorriza arbuscular.

A baixa fertilidade do solo de mata, apesar de apresentar a mesma micorrização dos demais manejos de solo, demonstrar ter proporcionando, possivelmente, uma micorrização menos efetiva às plantas, mesmo com maiores teores de matéria orgânica, não proporcionando a planta de feijão nutrientes em

quantidades adequadas e ambiente favorável para promoção de suprimento suficiente de fotoassimilados, visto que para o sucesso da simbiose deverá haver fornecimento de nutrientes ao hospedeiro pelo microrganismo, o qual por sua vez, dependerá do suprimento de fotoassimilados vegetais para garantir o seu desenvolvimento (SIQUEIRA et al., 2010, SMITH; SMITH, 2011). Este fato se torna evidente quando se observa o menor crescimento no número de esporos durante o experimento no solo de mata em relação aos demais manejos de solo, onde o solo de mata apenas aumentou em 11,8% o número de esporos de antes do experimento aos final deste e os manejo de 3 e 9 anos de despalha sem fogo, respectivamente 66,1% e 53,2.

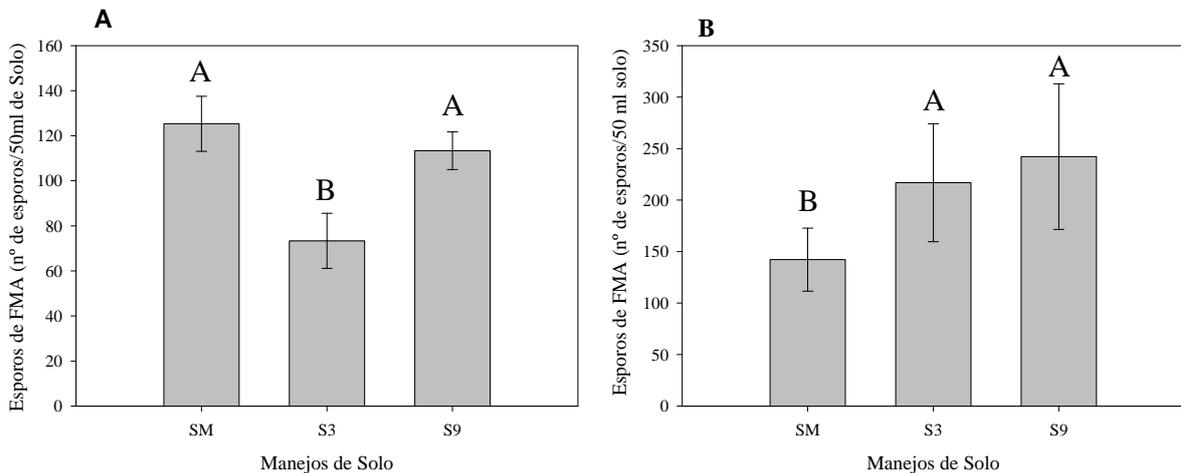


Figura 2 - Número de esporos nos solos antes do início do experimento (A) e após 90 dias de semeadura das plantas (estádio fenológico R7) de feijoeiro (B), na média dos genótipos. As letras indicam os grupos estatísticos obtidos a partir do teste de Tukey a 5%.

#### 4.2 Atividade da fosfatase ácida no solo

A análise de variância revelou que, a atividade da enzima fosfatase ácida no solo de rizosfera dos cultivares de feijão (Figura 3) apresentou diferença apenas entre os manejos de solos ( $p > 0,01$ ), sendo observada maior atividade da enzima no solo de mata (em 32,3% e 36,6%), 183,6  $\mu\text{g}$  de *p*-nitrofenol  $\text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ , em relação às

atividades verificadas nos demais manejos analisados, 124,2 e 116,4  $\mu\text{g de h}^{-1} \text{g}^{-1}$  de *p*-nitrofenol, respectivamente, aos solos de 3 e 9 anos de colheita sem despalha a fogo.

Os resultados observados para o solo de mata estão de acordo com os resultados descritos na literatura, devido ao fato deste solo apresentar baixos teores de fósforo (P) ( $7 \text{ mg dm}^{-3}$ ) e altos teores de matéria orgânica ( $35 \text{ g dm}^{-3}$ ) inicialmente e após o experimento aos 45 dias,  $7,1 \text{ mg dm}^{-3}$  e  $31,4 \text{ g dm}^{-3}$  respectivamente, e 90 dias após a semeadura,  $6,3 \text{ mg dm}^{-3}$  e  $32,1 \text{ g dm}^{-3}$  respectivamente. Segundo DICK e TABATABAI (1992) a maior atividade da enzima em solo com altas quantidades de matéria orgânica é devido à ciclagem de nutrientes para remobilização destes (transformação de P-orgânico para P-inorgânico).

Os baixos valores da atividade da enzima verificados no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo confirmam a mais elevada fertilidade química, garantida pelo manejo conservacionista deste solo, com maior aporte de MO, mesmo que o teor de P disponível, determinado pelo método da resina trocadora de íons (RAIJ; QUAGGIO, 2001) não tenha mostrado diferença significativa entre o S9 ( $9 \text{ mg dm}^{-3}$ ) solo de 3 anos sem despalha a fogo ( $7 \text{ mg dm}^{-3}$ ) e do solo de mata ( $7 \text{ mg dm}^{-3}$ ) inicialmente. O resultado possivelmente se deve ao fato da qualidade da MO e estoque de carbono deste solo, bem como pelo fato da disponibilidade do P determinado no ensaio não representar significativamente a fração de P disponibilizada por diversos processos biológicos na rizosfera ou no solo. Ademais fica evidente o fato da maior disponibilidade de P no sistema quando se observa as quantidades de P após o experimento no solo de 9 anos sem despalha a fogo, em nível médio,  $21,4 \text{ mg dm}^{-3}$  e  $19 \text{ mg dm}^{-3}$ , demonstrando a liberação de P por processo biológicos no solo e na rizosfera.

Segundo BANDICK e DICK (1999), a adubação mineral fosfatada pode interferir na determinação da atividade fosfatase ácida. A maior disponibilidade de P mineral no solo faz com se torne menos necessária a mineralização de formas orgânicas de fósforo pelos microrganismos e plantas, conseqüentemente, a atividade da enzima fosfatase ácida torna-se menor.

Pesquisas realizadas por ROLDÁN et al. (2005, 2007), comparando atividade de diversas enzimas no solo, incluindo a fosfatase ácida, em manejos de plantio direto, plantio convencional e campos nativos, demonstraram maiores valores da

atividade enzimática nos campos nativos, seguido pelo plantio direto, e os menores valores foram observados no plantio convencional. Ainda segundo ROLDÁN et al. (2007) e TIAN (2010) sistemas com maior aporte de matéria orgânica favorecem maior atividade da enzima fosfatase ácida, principalmente se esta adição for periódica.

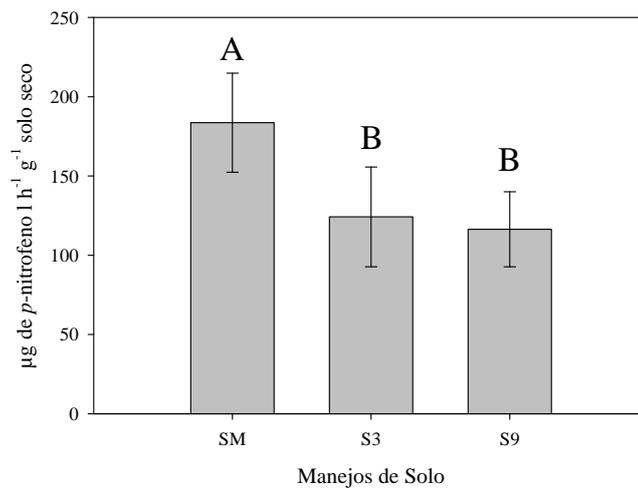


Figura 3 – Atividade da fosfatase ácida nos solos de rizosfera, aos 45 dias após a semeadura do feijão (estádio fenológico R1), dos manejos de solo, na média dos genótipos. As letras indicam os grupos estatísticos obtidos a partir do teste de Tukey a 5%.

### 4.3 Atividade da fosfatase ácida no tecido vegetal

Verificou-se interação entre os manejos de solo e os cultivares de feijão para os resultados da atividade da fosfatase ácida obtidos nas folhas ( $p > 0,05$ ), bem como entre os manejos de solos (na média dos genótipos) na atividade da enzima nas raízes do feijoeiro (Figura 4), aos 45 dias após a semeadura das plantas.

As maiores atividades foram verificadas nas folhas do genótipo BRS Estilo ( $23,8 \mu\text{mol p-NFP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), no solo de mata, 5,9% e 3,8% superiores em relação aos manejos de 3 e 9 anos de cultivos de cana sem despalha a fogo (respectivamente  $22,4$  e  $22,9 \mu\text{mol p-NFP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). Por sua vez, a atividade da enzima determinada nas

folhas do genótipo IAC-Alvorada cultivada no solo de 3 anos sem despalha a fogo foi maior que relação aquela observada no solo de 9 anos sem despalha a fogo em 4,7%, confirmando também o efeito positivo na nutrição em P da planta favorecido pelo manejo conservacionista do solo.

Os resultados da atividade da fosfatase ácida nas folhas não apresentaram diferença significativa para os cultivares avaliados, em cada um dos manejos de solo avaliados, demonstrando que a diferença nos resultados da atividade da fosfatase ácida foi em função apenas dos manejos de solo.

O comportamento da fosfatase ácida nas raízes foi semelhante ao observado nas folhas, em que o manejo de solo de 9 anos sem despalha a fogo promoveu nos genótipos de feijão os menores valores da atividade da enzima fosfatase ácida  $12,7 \mu\text{mol p-NFP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , independente dos genótipos avaliados. No entanto, os valores da atividade nas plantas cultivadas no solo de 3 anos sem despalha a fogo, média dos genótipos, ( $13,7 \mu\text{mol p-NFP g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) foi maior em relação ao solo de 9 anos sem despalha a fogo, podendo indicar que o manejo no solo de 3 anos sem despalha a fogo ainda não atingiu o equilíbrio necessário para maior disponibilização dos nutrientes no solo, notadamente o P.

A matéria orgânica acumulada na área com colheita sem despalha a fogo por 9 anos consecutivos proporcionou melhoria na fertilidade química do solo, favorecendo a diminuição da quantidade de P adsorvida em argilominerais de difícil dessorção, e estimulando a microbiota do solo, a qual solubiliza o P (Fernandes et al., 2006), contribuindo para a maior disponibilidade de P. A adubação fosfatada para a produção da cultura realizada anualmente na cultura da cana (ROSSETTO et al., 2008), também contribuiu para estes resultados da enzima nos feijoeiros. A maior disponibilidade de P para a planta diminui a necessidade de remobilização do P-orgânico, diminuindo assim a atividade da enzima. O maior acúmulo de P verificado nas plantas cultivadas no solo de 9 anos sem despalha a fogo (Tabelas 4 e 5), a massa de matéria seca das plantas de 9 anos sem despalha a fogo (Figuras 7, 8, 9) e os resultados apresentados anteriormente de fosfatase ácida no solo (Figura 4) reforçam este resultado.

A quantidade de matéria orgânica nas camadas superficiais do solo de mata proveniente de restos da vegetação, da qual é composta, pode ter favorecido a ciclagem de nutrientes no sistema que podem ter sido adquiridos (absorvidos) pelas

raízes presentes nas camadas mais profundas do solo. Por sua vez, a matéria orgânica acumula nas camadas superficiais pode ter promovido a liberação de P, e demais nutrientes ao solo, durante sua decomposição proporcionando certo equilíbrio da fertilidade do solo de mata, o que pode explicar a ausência de efeito do solo de mata e 9 anos de despalha sem fogo para a atividade da enzima avaliada nas raízes dos genótipos.

No solo de 3 anos de cana sem despalha a fogo, apesar da realização das adubações fosfatadas anuais durante o manejo de produção da cana, provavelmente o tempo de aporte de palhada não contribuiu para o aumento do estoque de MO e carbono do solo, em comparação com o S9, proporcionando menor suprimento de P à planta.

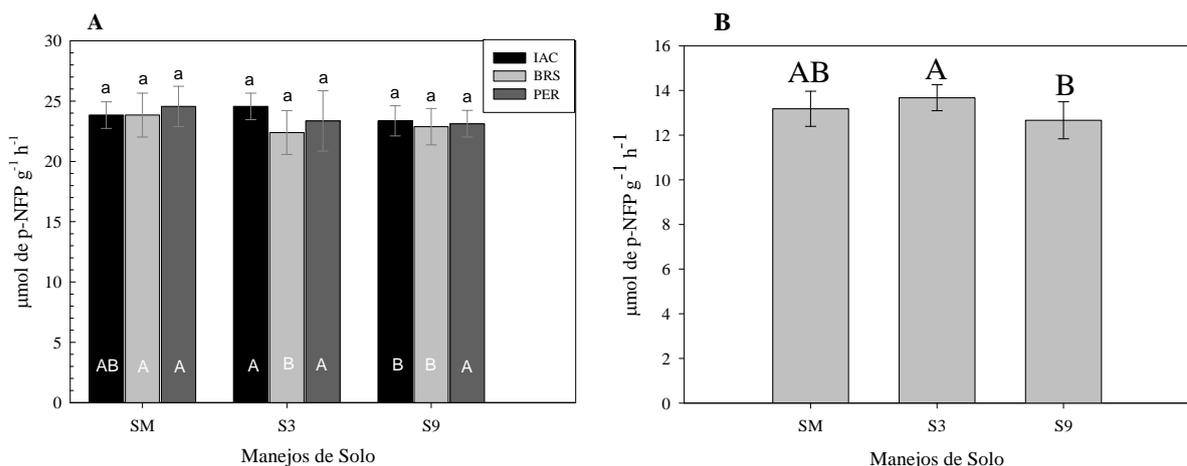


Figura 4 – Atividade da fosfatase ácida nas folhas (A) e nas raízes (B) de feijoeiro aos 45 dias após a semeadura (estádio fenológico R1). (A) As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo, Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 4.4 Atividade da redutase do nitrato no tecido vegetal

Constatou-se a interação entre os manejos de solo e os cultivares de feijão analisados ( $p > 0,01$ ) para a atividade da enzima nas folhas. O cultivar BRS Estilo

desenvolvido no solo de mata apresentou os maiores valores ( $7,2 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) em comparação às plantas dos demais manejos de solo 3 anos ( $2,2 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) e 9 anos, ( $2,1 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) sem despalha a fogo, sendo respectivamente 69,4% e 70,8% superior a ambos (Figura 5), o mesmo sendo observado para o cultivar Pérola, em que o tratamento do solo de mata ( $11,0 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) foi 44,5% superior aquele verificado no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo ( $6,1 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). Para o cultivar IAC Alvorada não foi constatada diferença significativa para a atividade da enzima, em função dos manejos dos solos.

Os resultados apresentados podem ser explicados pela adubação nitrogenada realizada na área segundo histórico da usina, utilizando ureia nos últimos 3 anos. Assim sendo a planta de feijão teve a sua disposição nos solos provenientes do cultivo de cana (3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo) uma grande quantidade de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) em relação ao estoque de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), proporcionando assim menor atividade da enzima redutase do nitrato na planta. No solo de mata esta situação não ocorreu (não há adubação), assim existindo maior quantidade da forma de nitrato, sendo necessária a planta de feijão realizar o metabolismo do nitrato para utilização do N desta fonte, produzindo assim mais redutase do nitrato. O nitrato se acumula mais no solo de mata devido ao fato que é a última forma dentro do ciclo do nitrogênio no solo.

A enzima redutase do nitrato é considerada um indicador do estado nutricional da planta para o nitrogênio, visto que a sua atividade é modulada, principalmente, pela concentração de  $\text{NO}_3^-$  no substrato. Ademais, vários trabalhos na literatura relataram correlação positiva da atividade enzimática com a produção de massa seca e concentração do N na planta. A redutase do nitrato ainda pode ser influenciada por outros fatores como déficit hídrico (HSIAO, 1979), luz (CAMPBELL, 1999) e está diretamente ligada a fotossíntese (KAISER; HUBER, 2001).

A matéria orgânica fornece durante decomposição/mineralização ao solo ambas as formas de N absorvidas pela planta (amônio e nitrato), estando este N imobilizado na biomassa microbiana e liberado de forma gradativa para a planta, à medida que esta biomassa se degrada. Não se sabe o que influencia a maior ou menor liberação de uma das duas formas de N absorvidas pela biomassa microbiana.

A atividade da redutase do nitrato no cultivar IAC Alvorada não diferiu para os manejos do solo, possivelmente pelo processo de absorção de N neste cultivar tenha sido exclusivamente efetuado pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico, sendo os ureídeos (alantoína e ácido alantóico ou citrulina) as espécies nitrogenadas exportadas no xilema para a parte aérea, em detrimento do  $\text{NO}_3^-$ , em relação aos outros genótipos. Todavia, isto é uma hipótese e que deverá ser considerada em outros estudos.

A atividade da redutase do nitrato no genótipo Pérola cultivado no solo de 3 anos de cana sem despalha a fogo ( $8,0 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) foi 39% e 73,6% maior em relação as atividades determinadas nos cultivares IAC Alvorada ( $4,9 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) e BRS Estilo ( $2,2 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), respectivamente (Figura 5). Resultado semelhante foi verificado nas plantas cultivadas em solo de mata, em que o cultivar Pérola também apresentou os maiores valores ( $11,1 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) em relação ao IAC Alvorada ( $4,3 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). Para o manejo de solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo, verificou-se que o cultivar BRS Estilo apresentou os menores valores ( $2,1 \mu\text{mol NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) em relação aos demais genótipos, sendo 69,6% e 67,8% inferior a IAC Alvorada e Pérola, respectivamente.

Pode-se observar que o cultivar Pérola apresentou os maiores valores de atividade da enzima, possivelmente devido a um sistema de enzimático mais eficaz que os demais cultivares. Outra possível explicação pode ser atribuída aos maiores teores de  $\text{N-NH}_4^+$  nos solos cultivados com a cana-de-açúcar, em relação ao solo de mata, em função da maior exudação de ácidos orgânicos aniônicos e de substância capazes de inibir o processo de nitrificação, como recentemente discutido para áreas cultivadas com gramíneas do gênero *Brachiaria* (Subbarao et al., 2009; Fernandes et al., 2011) e arroz (Tanaka et al., 2010), plantas pertencentes à mesma família botânica da cana-de-açúcar.

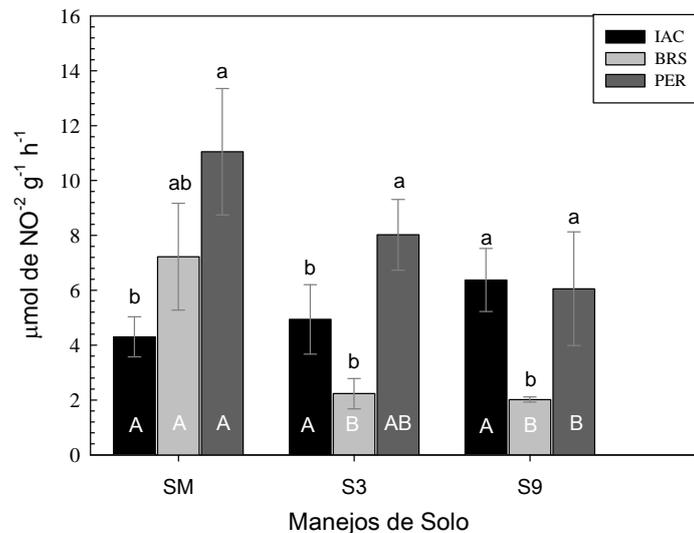


Figura 5 - Atividade da redutase do nitrato nas folhas de feijoeiro aos 45 dias após a semeadura. As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os tratamentos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo solo, Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 4.5 Atividade da urease no tecido vegetal

A atividade da enzima uréase nas folhas de feijoeiro foi influenciada pela interação entre os manejos de solos e os cultivares de feijão analisadas ( $p > 0,05$ ) (Figura 6). O manejo de solo de 9 anos sem despalha a fogo apresentou a menor atividade da enzima na planta em todas os cultivares em comparação com os demais manejos, solo de mata e 3 anos de cana sem despalha a fogo, BRS Estilo ( $14.3 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), IAC Alvorada ( $17.7 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) e Perola ( $6.9 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), sendo inferior em 54,3%, 52%, 53,4% ao manejo de solo de mata e 42,8%, 37,7% e 55,2% ao manejo de 3 anos sem despalha a fogo, respectiva ente para os cultivares BRS Estilo, IAC Alvorada e Perola. Os demais manejos de solo, mata e 3 anos sem despalha a fogo, apresentaram comportamento semelhantes nos cultivares IAC Alvorada e Perola.

A enzima uréase seguiu o comportamento da enzima fosfatase ácida, em que as plantas cultivadas no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo apresentaram os menores valores de atividade. O fato se deve da mesma forma a matéria

orgânica acumulada no sistema durante os seguidos anos de cultivo de cana sem queima associada às adubações e aplicação de vinhaça realizada anualmente como manejo produtivo da cana, proporcionando maior suprimento de N à planta. A maior disponibilidade de N para a planta diminuiu a necessidade de remobilização do elemento de tecidos mais velhos para tecidos mais novos (como o caso da folha utilizada para esta avaliação) na planta e por consequência, a atividade da enzima urease foi reduzida. Sabe-se que durante o processo de senescência foliar, agravada pela deficiência em N, acelera a catabolismo protéico (hidrólise e desestruturação dos cloroplastos) gerando arginina, nas mitocôndrias, à qual é quebrada por meio da ação da arginase, resultando na formação de uréia. Esta uréia formada é transportada para o citosol, onde será hidrolisada em  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{CO}_2$  pela urease (WITTE, 2011), o que talvez explique esta maior atividade nas plantas cultivadas em solo de mata.

A urease pode ser tomada como uma importante enzima de remobilização de nitrogênio na planta (SIRKO; BRODZIK, 2000; WITTE, 2011), podendo ser considerada um indicador da redistribuição no floema. Apesar desse fato, a enzima apresenta diversas outras funções na planta como metabolismo de ureia que é absorvida pela planta, metabolismo de estruturas nitrogenadas para produção de demais outras enzimas, dentre outros (POLACCO; HOLLAND, 1993; FOLLMER, 2008). Assim segundo diversos autores ainda existem controvérsias quanto a real relevância da uréase na planta (WANG; KOHLER, 2008; WITTE, 2011). Em pesquisas recentes Witte (2011) demonstrou que existe o transporte da ureia da raiz para as folhas, mesmo esta sendo tóxica a planta em quantidades consideráveis. Assim existe a possibilidade de parte da atividade da uréase estar realizando a quebra da uréia absorvida pela planta ou de metabolismo presente na raiz e não pela remobilização de reservas de nitrogênio da planta.

Em todos os manejos de solo, observou-se que o cultivar Pérola apresentou os menores valores de atividade enzimática nas folhas (solo de mata,  $14,9 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ , 3 anos de cana sem despalha a fogo,  $15,4 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ , 9 anos de cana sem despalha a fogo,  $6,9 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), sendo 59,1%, 50% e 61% menores no cultivar IAC Alvorada e 52,4%, 42,6%, 51,7% menores no cultivar BRS Estilo para os manejos de solo de mata, 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo, respectivamente. (Figura 6).

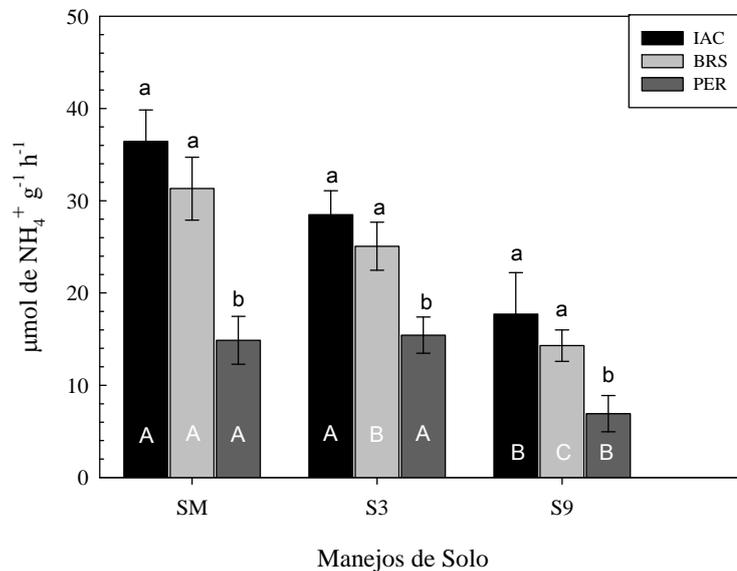


Figura 6 - Atividade da uréase nas folhas de feijoeiro aos 45 dias após a semeadura. As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os solos e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo solo, Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 4.6 Massa da Matéria Seca

A massa de matéria seca das folhas aos 45 e 90 dias após a semeadura (Figura 7) foi influenciada apenas pelo manejo de solo e sendo maiores resultados observados nas plantas cultivadas no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo, seguindo o mesmo padrão dos resultados das enzimas analisadas no experimento, principalmente a fosfatase ácida e urease.

Constatou-se interação entre os cultivares e os manejos de solo para a massa de matéria dos caules aos 45 dias após a semeadura e, apenas, diferença significativa entre os manejos de solo, na média dos genótipos de feijão, aos 90 dias (Figura 8). As massa de matéria seca do caule aos 45 após a semeadura foram maiores nas plantas cultivadas em solo de 9 anos cana sem despalha a fogo. Porém aos 90 dias as plantas cultivadas no solo de mata e no de 9 anos de cana sem

despalha a fogo obtiveram os maiores valores de massa de matéria seca entre os manejos de solo analisados.

Constatou-se nas raízes diferença significativa apenas ao final do ciclo da cultura (90 dias após a semeadura) entre os manejos de solo, na média dos genótipos de feijão, (Figura 9), em que as plantas cultivadas no solo de mata obtiveram os maiores valores de massa de matéria seca. Possivelmente os resultados se devem as plantas cultivadas no solo de mata terem alocado sua biomassa para maior desenvolvimento do sistema radicular (energia) em busca de nutrientes para os quais estavam deficiente. Assim levando a um maior desenvolvimento do sistema radicular em relação aos demais tratamento, 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo. Esta alocação é comumente vista principalmente na planta que sofrem deficiência de P no solo, ao qual pode ser perceber pelas análise de ocorrer no solo de mata (SOURCE, 2004).

Observou-se interação entre os manejos de solo e as cultivares de feijão para massa de matéria seca dos grãos ao final do ciclo (Figura 9), onde apenas na cultivar IAC Alvorada houve diferença significativa entre as cultivares de feijão, sendo os maiores valores nas plantas cultivadas no solo de 3 anos de cana sem despalha a fogo. Nas demais cultivares não houve diferença significativa entre os manejos de solo. O mesmo se observa na diferença entre os cultivares no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo. No solo de mata e 3 anos de cana sem despalha a fogo a cultivar BRS Estilo apresentou os maiores valores de massa seca de grãos.

A massa de matéria seca de modo geral reflete o maior desenvolvimento dos genótipos de feijão cultivadas no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo em relação aos demais manejos, principalmente o solo de mata, confirmando a maior fertilidade e qualidade do solo para o sistema com o passa do tempo, principalmente pela associação do acúmulo de matéria orgânica nos seguidos cultivos e a adição de fertilizantes e outros resíduos (vinhaça), realizados comumente para o manejo produtivo da cultura, assim refletindo em um sistema com maior aporte de nutrientes e conservação do solo.

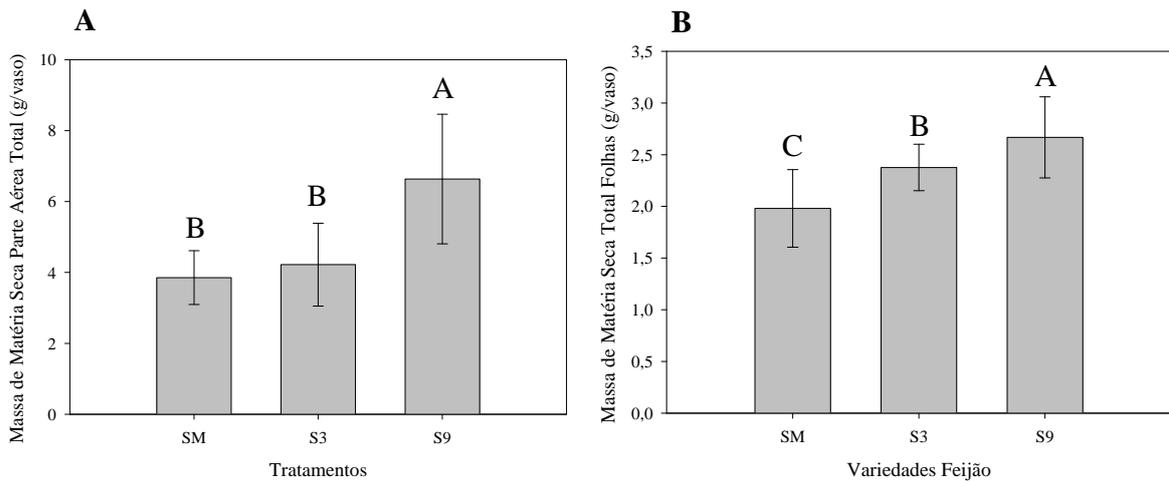


Figura 7 – Massa da matéria seca das folhas aos 45 dias após a semeadura em (A) e aos 90 dias após a semeadura em (B), ambas dos manejos de solo, na média dos genótipos. As letras indicam os grupos estatísticos obtidos a partir do teste de Tukey a 5%.

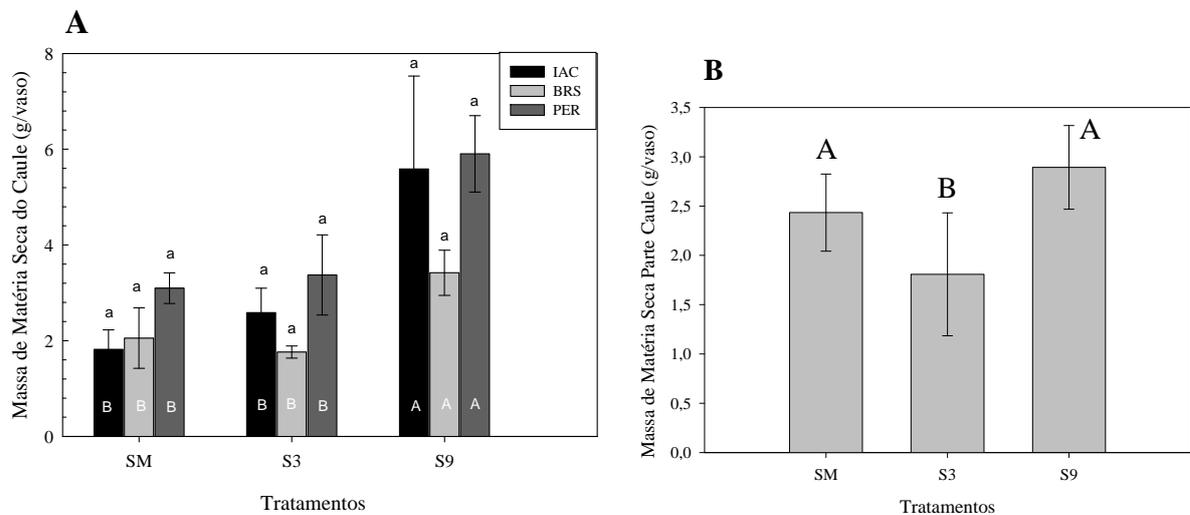


Figura 8 – Massa da matéria seca do caule aos 45 dias após a semeadura em (A) e aos 90 dias após a semeadura em (B), ambas dos manejos de solo, na média dos genótipos. As letras indicam os grupos estatísticos obtidos a partir do teste de Tukey a 5%.

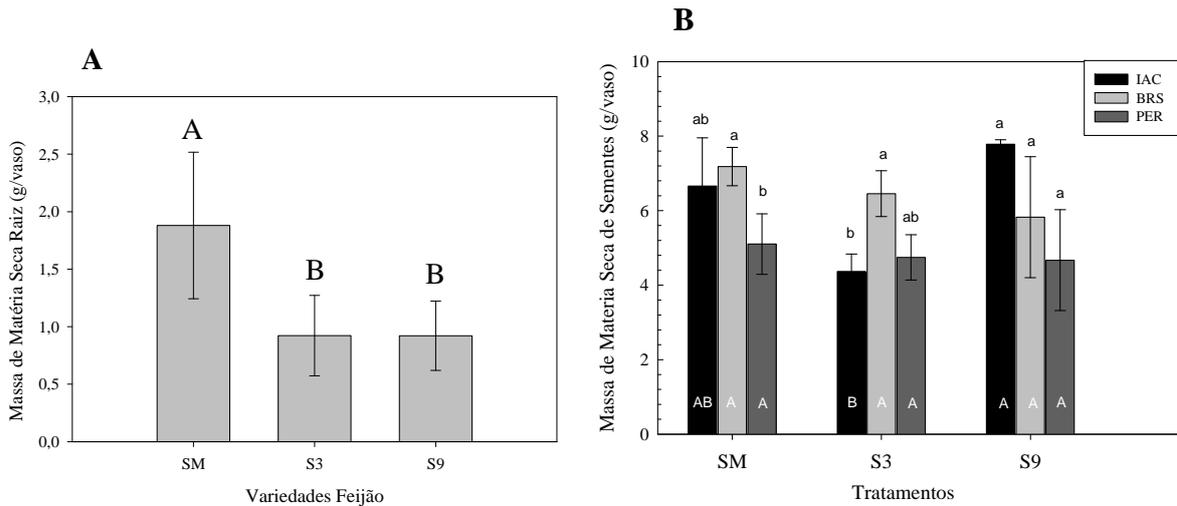


Figura 9 – Massa da matéria seca das raízes aos 45 dias após a semeadura em (A) e dos grãos os 90 dias após a semeadura em (B), ambas dos manejos de solo, na média dos genótipos. As letras indicam os grupos estatísticos obtidos a partir do teste de Tukey a 5%.

#### 4.7 Acúmulo de macronutrientes na planta

Os acúmulos de N, P, K e S nas plantas de feijão dos tratamentos, determinados aos 45 e 90 dias após a semeadura, estão apresentados na Tabela 4 e na Tabela 5, respectivamente.

Os acúmulos de N, P, K e S pelas plantas, na média dos genótipos, foram influenciados pelo manejo do solo, tanto na avaliação aos 45 dias após a semeadura das plantas (em R1), quanto ao final do ciclo (em R7).

Os acúmulos de N pelas plantas observados aos 45 e 90 dias após a semeadura foram maiores nas plantas cultivadas no solo de 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo em relação às plantas crescidas no solo de mata, respectivamente em 13,2% e 12,5%. Nas plantas cultivadas no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo, os acúmulos de K, avaliados aos 45 e 90 dias após a semeadura, foram superiores em 16,5% e 27,3% aqueles obtidos nas plantas desenvolvidas nos solos de 3 anos de cana sem despalha a fogo e mata.

Os resultados observados para acúmulo de N e K apresentaram comportamento semelhante, devido à maior fertilidade química do solo de 3 e 9 anos

de cana sem despalha a fogo, que foi favorecida pela adubação do canavial e pela contribuição do aporte de matéria orgânica presente em ambos os solos, principalmente no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo. O solo de mata não proporcionou desenvolvimento das plantas como os demais manejos devido ao fato de apresentar baixa fertilidade, limitando o efeito benéfico da matéria orgânica abundante no sistema.

Constatou-se diferença significativa entre os manejos de solo aos 45 e 90 dias após a semeadura para o acúmulo de P na planta, nos quais o manejo de solo de 9 anos sem despalha a fogo proporcionou os maiores acúmulos (maior absorção de P) em comparação com o solo de mata e 3 anos de cana sem despalha a fogo. O comportamento apresentado se deve novamente ao alto teor de matéria orgânica nos solos de 9 anos de cana sem despalha a fogo, esta auxiliando nas reações químicas do solo, no equilíbrio químico de cargas e fornecendo P e outros nutrientes a planta (SANTOS et. al., 2008). Os maiores teores de P observados nas análises de fertilidade do solo dos vasos e da rizosfera das plantas de feijão no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo após o experimento concordam com os resultados de acúmulo de P, confirmando o maior suprimento de P à planta e consequentemente a maior absorção do elemento. Contudo, tem sido relatado na literatura que apesar da entrada de matéria orgânica no solo (biomassa), esta não proporciona aumento imediato no P orgânico aos solos, podendo ser imobilizado durante a decomposição do material pela biomassa microbiana ou sofrendo reações de adsorção a própria matéria orgânica do solo ou fração mineral deste, sendo liberada gradativamente à planta (DICK, 1983; KINGERY, 1996; SANTOS et. al., 2008).

Os acúmulos de S nas plantas de feijão, na média dos genótipos, avaliadas aos 45 dias após a semeadura e cultivadas no solo oriundo de área com colheita sem despalha a fogo por 9 anos foram 29% e 18,5% superiores em relação às quantidades acumuladas nas plantas cultivadas no solo de mata e 3 anos de cana sem despalha a fogo, respectivamente. Por sua vez, o acúmulo determinado no final do ciclo das plantas (no estágio fenológico R7) cultivadas no solo de 9 anos sem despalha a fogo foi 15% e 31% superior, respectivamente, a aqueles observados nas plantas cultivadas no solo de mata e 3 anos de cana sem despalha a fogo,

confirmando mais uma vez os benefícios neste sistema conservacionista (solo de 9 anos sem despalha a fogo) em relação à disponibilidade de S.

Tabela 4 – Acúmulo dos macronutrientes N, P, K e S nas plantas de feijão, aos 45 dias após a semeadura (no estágio fenológico R1).

Tratamento	Nitrogênio	Fósforo	Potássio	Enxofre
	----- mg/vaso -----			
SM x BRS				
SM x IAC	166,4 B*	8,5 B	324,6 C	16,4 B
SM x Per				
S3 x BRS				
S3 x IAC	191,75 A	8,4 B	372,9 B	18,9 AB
S3 x Per				
S9 x BRS				
S9 x IAC	190,22 A	17,1 A	446,9 A	23,2 A
S9 x Per				
Probabilidade	----- P > F -----			
Solo*	0,079	>0,001	0,008	0,016
Interação**	0,223	0,722	0,684	0,446
CV%	24,1	16,7	29,9	19,1

\* As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%

\*\* As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo quando teste de Tukey a 5%.

Tabela 5 – Acúmulo dos macronutrientes N, P, K e S nas plantas de feijão, aos 90 dias após a semeadura (no estágio fenológico R7).

Tratamento	Nitrogênio	Fósforo	Potássio	Enxofre
	----- mg/vaso -----			
SM x BRS				
SM x IAC	244,8 B*	15,4 B	372,0 B	26,7 AB
SM x Per				
S3 x BRS				
S3 x IAC	267,2 A	11,1 B	400,6 A	21,5 B
S3 x Per				
S9 x BRS				
S9 x IAC	266,1 A	22,5 A	409,2 A	31,4 A
S9 x Per				
Probabilidade	----- P > F -----			
Solo*	0,003	0,008	>0,001	0,011
Interação**	0,093	0,960	0,294	0,183
CV%	13,4	34,6	18,3	19,4

\* As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%

\*\* As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos das cultivares dentro do mesmo manejo de solo no teste de Tukey a 5%.

#### 4.8 Análise da fertilidade química do solo

Os teores de P, K, Ca, Mg e S nos solos dos vasos do experimento aos 45 e 90 dias após a semeadura estão apresentadas nas Tabelas 6 e na Tabela 7, respectivamente. Nas Tabelas 8 e 9 estão presentes os resultados de CTC, SB, V%, pH, Al, acidez potencial (Al+H) e teor de matéria orgânica (M.O.) obtidos nas análises de solo dos vasos do experimentos aos 45 e 90 dias após a semeadura, respectivamente.

Constatou-se diferença entre os manejos de solo analisados para a quantidade de MO no solo dos vasos aos 45 e 90 dias após a semeadura, nos quais em ambos os casos o solo de mata apresentou os maiores índices de matéria orgânica em comparação com os demais manejos de solo, 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo.

Apesar do solo de mata apresentar os maiores teores de matéria orgânica no solo, este apresenta condicionamento (atributos do solo ruins) em comparação aos demais manejos analisados, como baixo pH, baixos teores de magnésio, altos teores de manganês (RAIJ et al., 1996), presença de alumínio, baixo V% e grande parte da CTC composto por acidez (H<sup>+</sup>), devido a não correção e adubação periódica, presente nos demais tratamento de solo (3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo). Assim o solo de mata oferece um ambiente com menor qualidade de desenvolvimento das plantas (genótipos de feijão), proporcionando assim que esta matéria orgânica não seja adequadamente aproveitada (seus nutrientes e efeitos condicionadores). Ademais a adição de resíduos comumente realizados na cultura da cana, como a vinhaça, e a prática da reforma de canavial periódica proporcionam ao solo com cultivo de cana aporte de nutrientes e correção dos seus atributos (pH, V%, CTC e demais), aumentando da qualidade da matéria orgânica presente no sistema e proporcionando que os efeitos condicionadores no sistema solo sejam melhor aproveitados pelas plantas.

A matéria orgânica presente no solo de mata não apresenta composição nutricional na mesma qualidade que a matéria orgânica dos demais manejos de solo, 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo, devido ao fato do material que origina esta matéria orgânica, ser pobre em nutrientes (baixos teores de nutrientes) devido a

baixa fertilidade do ambiente onde se encontra, caso contrário ao observada para a matéria orgânica presente nos manejos de solo de 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo, esta proveniente de palhada de cultura anualmente adubada.

A quantidade de matéria orgânica em solos cultivados com cana sem queima durante o processo de colheita aumenta com os sucessivos cultivos na área, devido aos aportes de palhada realizadas durante a colheita, em média 1,5 ton C ha (CERRI, et. al., 2004). CANELLAS et. al. (2003), em pesquisas com solo por longo período de cultivo de cana, também observaram maior acúmulo de matéria orgânica no sistema e melhoria na qualidade do material humificado no solo. CANELLAS et. al. (2003; 2007) observaram também resultados de aumento da matéria orgânica em sistema de cultivo de cana sem queima por longo período em comparação com cultivos com queima da cana utilizando outras metodologias de análise da qualidade e quantidade da matéria orgânica, como fluorescência dos ácidos húmicos (AH), ressonância paramagnética (RPE), ressonância magnética nuclear (RMN<sup>13</sup>).

A análise de variância dos teores de P no solo, aos 45 dias após a semeadura, na média dos genótipos, revelou diferença entre os manejos de solo, em que o manejo de solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo proporcionou os maiores teores em comparação aos demais manejos, os quais não diferiram estatisticamente.

A análise de variância para os teores dos elementos no solo aos 90 dias após a semeadura exibiu interação entre os manejos de solo e os cultivares de feijão para os teores de P, em que o solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo apresentou os maiores valores, para os três cultivares de feijão estudadas. Os demais manejos, solo de mata e 3 anos de cana sem despalha a fogo não diferiram para esta variável resposta.

Para o manejo de solo de mata e 3 anos de cana sem despalha a fogo, foi verificado o maior teor de P no genótipo IAC Alvorada em relação ao Perola. Não houve diferença significativa entre os cultivares de feijão analisados para os teores de P no manejo de solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo, confirmando mais uma vez a contribuição do manejo conservacionista em disponibilizar e manter os maiores teores dos nutrientes no solo.

Vale destacar que os resultados apresentados para os teores de P no solo rizosférico estão bem acima daqueles resultados referentes ao solo antes do início dos tratamentos, pelos mecanismos vegetais responsáveis pela maior disponibilização de P que poderia estar ligado à Fe e Al, ou formas não-lábeis.

Os teores de K no solo aos 45 e 90 dias após a semeadura, na média dos genótipos, foram maiores no solo de 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo em relação ao solo de mata em 13,2% e 12,5%, respectivamente. Os resultados possivelmente se devem a maior exploração do solo pelas plantas de feijão cultivadas nos solos de 3 e 9 anos sem despalha a fogo, onde o sistema radicular das plantas cultivadas nestes tratamentos ocuparam grande volume de solo presente nos vasos, fato que não se repetiu no solo de mata.

Os teores de S o solo dos vasos, média dos genótipos, avaliadas aos 45 e 90 dias após a semeadura foram maiores no solo de mata em comparação aos demais manejos de solo, 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo sem despalha a fogo. O solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo apresentou em ambos os períodos de análises os menores resultados.

Os teores de S no solo dos vasos aos 45 e 90 dias após a semeadura obtiveram diferença entre os manejos de solo, sendo que em ambos os casos o manejo de solo de mata apresentou os maiores valores de S no solo. Nas análises os 45 dias após a semeadura o manejo de solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo obteve o menor valor de S no solo. Aos 90 dias ambos os manejos de solos, 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo, estão no mesmo grupo estatístico com os menores valores de S no solo.

Segundo ALVAREZ et. al. (2007) existem diversas fontes de aportes de S ao solo proporcionado pela ação humana de forma indireta, como a presença do elemento em fertilizantes, via poeira, através da chuva ácida e outras presenças antrópicas, fato este que explicam os altos valores presentes em todos os manejos de solo analisados no experimento. Os altos teores de S apresentados no solo de mata advêm da grande atividade humana (indústrias e grandes aglomerados populacionais) existentes em Piracicaba e região, sendo este elemento acumulado no solo ao longo do tempo sem perdas proporcionadas pela rápida ciclagem de nutrientes do ambiente natural e solos com grande quantidade de matéria orgânica.

Observou-se que os resultados de SB e V% apresentaram comportamento semelhante, com diferença entre os manejos de solo aos 45 e 90 dias após a semeadura, nos quais o manejo de solo de 3 anos de cana sem despalha a fogo apresentou os maiores valores em detrimento aos demais manejos de solo, mata e 9 anos sem despalha a fogo, ambos com os menores valores. A única exceção foi no V% aos 90 dias, onde o solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo obteve valores superiores ao solo de mata.

Os resultados observados em SB e V% novamente se devem aos reflexos da aplicação de uma forte adubação de entrada na área, como observado nos teores de Ca, Mg, Al e acidez potencial, contudo ao longo do tempo de cultivo na área temos negligência por parte dos produtores nos manejos de adubação (SEGATO et. al., 2007).

Tabela 6 – Teores de nutrientes dos solos de vasos aos 45 dias após a semeadura de Feijão.

Tratamento	Fósforo	Enxofre	Cálcio	Magnésio	Potássio
	----- mg dm <sup>-3</sup> -----		----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----		
SM x BRS			21,6 Ba**		
SM x IAC	7,1 B*	54,0 A	21,6 Ba	6,6 C	1,8 A
SM x Per			20,0 Ba		
S3 x BRS			30,3 Aa		
S3 x IAC	6,2 B	40,0 AB	28,6 Aa	18,8 A	1,7 A
S3 x Per			28,6 Aa		
S9 x BRS			22,0 Ba		
S9 x IAC	21,4 A	35,6 B	20,0 Ba	11,8 B	0,9 B
S9 x Per			21,0 Ba		
Probabilidade	----- P > F -----				
Solo*	>0,001	>0,001	0,001	>0,001	>0,001
Interação**	0,797	0,4939	0,051	0,9542	0,2630
CV%	9,4	12,9	10,4	10,3	24,9

\*As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%.

\*\* As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo no teste de Tukey a 5%.

Tabela 7 – Soma de Bases, CTC, V%, pH, Alumínio, Al+H e matéria orgânica dos solos de vaso aos 45 dias após a semeadura.

Tratamentos	M.O. -- g dm <sup>-3</sup> --	pH (CaCl <sub>2</sub> )	V%	SB	Al	Al + H	CTC
				----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			
SM x BRS		4,2 Ba**					
SM x IAC	31,4 A*	4,3 Ba	31,5 B	29,8 B	3,9 A	63,4 A	
SM x Per		4,3 Ba					
S3 x BRS		4,6 Ab					
S3 x IAC	29,6 B	4,9 Aa	53,9 A	49,6 A	1,5 B	42,5 C	92,1
S3 x Per		4,5 Ab					
S9 x BRS		4,3 Ba					
S9 x IAC	28,3 B	4,3 Ba	37,4 B	33,7 B	2,3 AB	56,0 B	
S9 x Per		4,3 Ba					
-----							
Probabilidade	----- P > F -----						
Solo*	0,014	>0,001	>0,001	>0,001	0,006	>0,001	0,394
Interação**	0,571	0,010	0,638	0,8048	0,216	0,615	0,794
CV%	5,6	1,7	6,5	8,4	42,8	8,6	7,3

\*As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%.

\*\* As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo no teste de Tukey a 5%.

Tabela 8 – Teores de nutrientes nos solos, aos 90 dias após a semeadura de feijão.

Tratamento	Fósforo	Enxofre	Cálcio	Magnésio	Potássio
	----- mg dm <sup>-3</sup> -----		----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----		
SM x BRS	6,3 Bab**			6,6 Ca	
SM x IAC	7,6 Ba	60,1 A*	19,5 B	7,3 Ca	1,8 A
SM x Per	5,0 Bb			5,6 Ca	
S3 x BRS	6,6 Bab			22,3 Aa	
S3 x IAC	8,0 Ba	29,8 B	32,9 A	23,0 Aa	2,1 A
S3 x Per	6,0 Bb			19,0 Ab	
S9 x BRS	19,6 Aa			10,3 Bb	
S9 x IAC	18,3 Aa	34,1 B	20,8 B	11,6 Bab	0,8 B
S9 x Per	19,3 Aa			12,3 Ba	
Probabilidade	----- P > F -----				
Solo*	>0,001	>0,001	>0,001	>0,001	>0,001
Interação**	0,028	0,914	0,317	0,005	0,710
CV%	7,5	24,5	8,6	7,1	12,7

\*As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%.

\*\* As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo no teste de Tukey a 5%.

Tabela 9 – Soma de Bases, CTC, V%, pH, Alumínio, Al+H e matéria orgânica dos solos de vaso aos 90 dias após a semeadura.

Tratamentos	M.O. -- g dm <sup>-3</sup> --	pH (CaCl <sub>2</sub> )	V%	SB	Al	Al + H	CTC
				----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			
SM x BRS					4,0 Ab**		
SM x IAC	32,1 A*	4,3 B	31,1 C	34,6 B	5,0 Aa	62,1 A	
SM x Per					3,3 Ab		
S3 x BRS					1,0 Ca		
S3 x IAC	29,9 B	4,8 A	59,3 A	56,5 A	0,3 Ca	38,5 C	90,4
S3 x Per					1,0 Ca		
S9 x BRS					2,6 Bab		
S9 x IAC	30,1 B	4,4 B	38,8 B	32,5 B	3,0 Ba	52,2 B	
S9 x Per					2,0 Bb		
Probabilidade	----- P > F -----						
Solo*	0,036	>0,001	>0,001	0,004	>0,001	>0,001	0,057
Interação**	0,589	0,227	0,223	0,434	0,004	0,615	0,804
CV%	5,2	2,8	7,5	28,7	14,0	9,7	7,6

\*As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%.

\*\* As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo no teste de Tukey a 5%.

#### 4.9 Análise da fertilidade química do Solo de rizosfera do feijoeiro

Os teores de P, K, Ca, Mg e S no solo da rizosférico das plantas de feijão estão apresentadas nas Tabelas 10. Na Tabela 11 estão presentes os resultados de CTC, SB, V%, pH, Al, acidez potencial (Al+H) e teor de matéria orgânica (M.O.), obtidos nas análises de solo da rizosférico das plantas de feijão.

Os teores de P avaliados nos solos de mata, 3 e 9 anos de cana colhida sem despalha a fogo, aos 45 dias após a semeadura (estádio fenológico R1) foram superiores aqueles valores encontrados nos solos antes do início dos tratamentos, bem como em relação aos teores de P determinados no solo dos vasos após o cultivo das plantas. Os teores de P dos solos antes e após o cultivo das plantas, extraídos pela resina trocadora de íons (RAIJ; QUAGGIO, 2001), são classificados como baixo (de 7 a 15 mg dm<sup>-3</sup>), enquanto que aqueles extraídos e determinados no solo rizosférico são classificados como médio (16 a 40 mg dm<sup>-3</sup>) (RAIJ et al., 1996), notadamente no solo S9 e que, possivelmente, pode ser explicado pela atividade da microbiota do solo. Segundo Siqueira e Moreira (2006) a microbiota do solo é capaz de solubilizar fontes de fósforo pouco acessíveis à planta através de seu aparato bioquímico, assim podendo esta atividade ter liberado uma maior quantidade P, determinada por meio da análise de solo.

Os valores de V% e dos teores de K no solo da rizosfera também apresentaram comportamento diferenciado em relação às análises de solo dos vasos, valores estes acima daqueles determinados nas análises de solo. Estes aumentos se devem à maior concentração de nutrientes na rizosfera devido à constante aproximação destes à planta (raiz), por meio dos mais diferentes processos de contato dos nutrientes com a raiz da planta, como por exemplo, o fluxo de massa e a difusão. A maior atividade microbiana devido aos exudados da planta também é responsável pelo aumento de nutrientes próximo às raízes, este liberando K e aumentando V% quando morrem e liberam os nutrientes durante a decomposição (ciclagem de nutrientes).

O fato dos teores de enxofre não ser significativo, como nos dados da análise de solo dos vasos, possivelmente se deve ao comportamento da planta de liberar íons SO<sub>4</sub> e formas semelhantes para o solo para ajudar no equilíbrio químico em

favor da entrada de nutrientes (HAWKESFORD et al., 2010), principalmente, pois o solo apresenta altos teores de S em todos os solos estudados.

Tabela 10 – Teores de nutrientes no solo rizosférico do feijoeiro.

Tratamento	Fósforo	Enxofre	Cálcio	Magnésio	Potássio
	----- mg dm <sup>-3</sup> -----		----- mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----		
SM x BRS	11,3 Ba**				
SM x IAC	9,3 Ba		22,1 B*	7,6 C	3,2 A
SM x Per	8,3 Ba				
S3 x BRS	8,0 Ba				
S3 x IAC	8,3 Ba	42,8	31,9 A	21,0 A	2,4 B
S3 x Per	8,7 Ba				
S9 x BRS	26,0 Aa				
S9 x IAC	21,3 Ab		21,0 B	13,2 B	1,3 C
S9 x Per	22,0 Aab				
Probabilidade	----- P > F -----				
Solo*	>0,001	0,108	>0,001	>0,001	>0,001
Interação**	0,0261	0,3762	0,099	0,2470	0,4150
CV%	8,4	14,8	6,1	13,5	24,7

\*As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%.

\*\* As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo no teste de Tukey a 5%.

Tabela 11 – SB, CTC, V%, pH, Al, Al+H e M.O. do solo de rizosfera do feijoeiro

Tratamentos	M.O. -- g dm <sup>-3</sup> --	pH (CaCl <sub>2</sub> )	V%	SB -----	Al mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Al + H -----	CTC -----
SM x BRS							
SM x IAC	35,9 A*	4,3 C	37,9 B	33,0 B	2,4 A		87,8 AB
SM x Per							
S3 x BRS						48,7	
S3 x IAC	29,2 B	4,7 A	57,1 A	55,0 A	1,1 B		96,0 A
S3 x Per							
S9 x BRS							
S9 x IAC	27,0 B	4,5 B	42,4 B	35,6 B	2,0 A		83,2 B
S9 x Per							
Probabilidade	----- P > F -----						
Solo*	0,009	>0,001	>0,001	>0,001	>0,001	0,117	0,029
Interação**	0,1894	0,296	0,8671	0,252	0,224	0,776	0,611
CV%	15,0	1,8	8,9	8,7	22,6	20,0	9,1

\*As letras maiúsculas indicam os grupos estatísticos dos manejos de solo no teste de Tukey a 5%.

\*\* As letras em maiúsculo indicam os grupos estatísticos dos cultivares entre os manejos de solo e as letras minúsculas indicam os grupos estatísticos dos cultivares dentro do mesmo manejo de solo no teste de Tukey a 5%.

## 5 CONCLUSÃO

Em geral pode-se concluir, observando os resultados obtidos, que o solo de 9 anos de cultivo de cana colhida sem queima (9 anos de cana sem despalha a fogo) apresenta as melhores condições de fertilidade do solo e microbiologia do solo entre os manejos de solo analisados, demonstrando as melhorias proporcionadas pelo manejo conservacionista de colheita sem despalha utilizando fogo ao longo do tempo.

O solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo apresentou os melhores resultados para o estado nutricional dos macronutrientes no feijoeiro cultivado no experimento, apresentando os melhores resultados nas enzimas analisadas (redutase do nitrato, uréase, fosfatase ácida na raiz e nas folhas), acúmulo na planta e avaliação das concentrações de nutrientes em tecidos foliares.

A micorrização não apresentou diferença significativa entre os manejos de solo, contudo a quantidade de esporos verificada no solo de 9 anos de cana sem despalha a fogo demonstrou grande quantidade de esporos, evidenciando as melhorias na atividade da micorriza arbuscular pelo manejo conservacionista aplicado

Os resultados da enzima fosfatase ácida demonstraram que as plantas cultivadas nos solos de 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo sofreram menor estresse nutricional em P de modo que reduziram a necessidade de remobilização do P-orgânico nos seus tecidos.

## 6 REFERÊNCIAS

ABREU, A. F. B.; PELOSO, M. J. **Cultivares de feijoeiro comum para o estado de Minas Gerais**. Santo Antônio de Goiás, CNPAF. p.1-4, 2004.(Circular Técnico, 65).

AGRIANUAL 2009. **Anuário da Agricultura Brasileira**. 14. ed. FNP Consultoria & Agroinformativos, São Paulo, p.497, 2009.

ALVAREZ, V. H.; ROSCOE, R.; KURIHARA, C. H.; PEREIRA, N. F. Enxofre In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds.). **Fertilidade do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, p.374-470, 2007.

ARAUJO, A. P.; MACHADO, C. T. T. Fósforo. In: Fernandes, M. S. (Org.) **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Ed. SBCS, p.53-85, 2006.

ARSHAD, J. Arbuscular Mycorrhizal Mediated Nutrition in Plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.32, n.10, p.1595-1618, 2009.

AZCÓN-AGUILAR, C.; CANTOS, M.; TRONCOSO, A.; BAREA, J.M. Beneficial effect of arbuscular mycorrhizas in acclimatization of micropropagated cassava plantlets. **Scientia Horticulturae**, 72:63-71, 1997.

BARBOSA, F. R.; SILVA, C. C.; GONZAGA, A. C. O.; SILVEIRA, P. M.; QUINTELA, E. D.; JUNIOR, M. L.; COBUCCI, T.; PELOSO, M. J.; JUNQUEIRA, R. B. M. **Sistema de produção integrada do feijoeiro comum na Região Central Brasileira**. Santo Antônio de Goiás, CNPAF. p.1-28, 2009.(Circular Técnico, 56).

BANDICK, A. K.; DICK, R. P., Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.31, p.1471-1479, 1999.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A. Y FONSECA, H. M. A. C. **Fungos micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição**. In: Fernandes, M. S. (Org.) **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, Ed. SBCS, p.53-85, 2006.

BESFORD, R. T. Phosphorus nutrition and acid phosphatase activity in the leaves of seven plant species. **Journal of the Science and Food and Agriculture**, v.30, p.281-285, 1979.

BONFANTE, P.; GENRE, A.; FACCIO, A.; MARTINI, I.; SCHAUSER, L.; STOUGAARD, J.; WEBB, J.; PARNISKE, M. The *Lotus japonicus* LjSym4 Gene is required for the successful symbiotic infection of root epidermal cells. **Mol. Plant Microbe Interact.** v.13, p.1109–1120, 2000.

BRADY, N. C. **Natureza e propriedades do solo.** 7. ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1989. 878 p.

CAMPBELL, W. H. Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology. **Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.** v.50 p.277–303, 1999

CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; MARCIANO, C. R.; RAMALHO, J. F. G. P.; RUMJANEK, V. M.; REZENDE, C. E.; SANTOS, G. A. Propriedades químicas de um cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhicho e adição de vinhaça por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.935-944, 2003.

CANELLAS, L. P.; BALDOTTO, M. A.; BUSATO, J. G.; MARCIANO, C. R.; MENEZES, S. C.; SILVA, M. N da; RUMJANEK, V. M.; VELLOSO, A. C. X.; SIMÕES, M. L.; MARTIN-NETO, L. M. Estoque e qualidade da matéria orgânica de um solo cultivado com cana-de-açúcar por longo tempo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.31, n.2, p.331-340, 2007.

CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; RAIJ, B. Van. Determinação da Matéria orgânica. In: RAIJ, B. Van; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Ed.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais.** Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas IAC. p.173-180, 2001.

CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; BARETTA, C. R. D. M.; PAULA, A. M. Micorriza arbuscular na aquisição de nutrientes pela planta. IN SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil.** Lavras, UFLA, p.716, 2010.

CARRENHO, R.; GOMES-DA-COSTA, S. M.; BAOLTA, E. L.; COLOZZI, A. Fungos micorrízicos arbusculares em agroecossistemas brasileiros. IN SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil.** Lavras, UFLA, p.716, 2010.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. In: MOURA, R. M. ; MENEZES, M.; MARIANO, R. L. R (Eds). **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**. Recife: UFPE, Imprensa Universitária, v.5 e 6, 2008-2009.

CERRI, C.E.P.; SPAROVEK, G.; BERNOUX, M.; EASTER-LING, W. E.; MELILLO, J.M.; CERRI, C. C. Tropical agriculture and global warming: Impacts and mitigation options. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.64, p.83-99, 2007.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de cana de açúcar, primeiro levantamento, Maio 2011**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11\\_04\\_07\\_11\\_02\\_42\\_boletim\\_Maio-2011..pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_04_07_11_02_42_boletim_Maio-2011..pdf)> Acesso em: 18 Maio 2011.

Cerri, C. C.; Cerri, C. E. P.; Davidson, E. A.; Bernoux, M.; Feller, C. **A ciência do solo e o Sequestro de Carbono**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo: Boletim Informativo, Viçosa, v. 29, p.6, 2004.

DAINESE, M. B.; CARDOSO, E. J. B. N. **Algumas observações sobre fungos endomicorrízicos em associação com Cana-de-Açúcar**. O Solo, Piracicaba, v.73, p.24-27, 1981.

DAVIES F. T. JR.; PURYEAR J. D.; NEWTON R.J.; EGILLA J. N.; SARAIVA G. J. A. Mycorrhizal Fungi Enhance Accumulation and Tolerance of Chromium in Sunflower (*Helianthus Annuus*). **J. Plant Physiology Stuttgart** , v.158, p.777-786, 2001.

DICK, W. **Organic** carbon, nitrogen, and phosphorus concentrations and pH in soil profiles as affected by tillage intensity. **Soil Science Society of America**, Madison, v.47, p.102-107, 1983.

DICK, W. A.; TABATABAI, M. A. Significance and potential uses of soil enzymes. In: METTING, F. B. (Eds.). **Soil Microbial Ecology**. New York: Marcel Dekker, p.95-127, 1992.

DOURADO-NETO, D.; TIMM, C.; OLIVEIRA, J. C. M.; REICHARDT, K.; BACCHI, O. O. S.; TOMINAGA, T. T.; CÁSSARO, F. A. M. State-space approach for the analysis of soil water content and temperature in a sugarcane crop. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, p.1215-1221, 1999.

EZETA, F. N.; SANTOS, O. M. Benefícios da Introdução de Endomicorriza Eficiente na Utilização de Nutrientes em Solos do Sul da Bahia. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.4, n.1, p.13-17, jan./abr., 1980.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de Feijão**. 2. Ed., Piracicaba, Livrocere. p.386, 2007.

FERNANDES, A. M.; ANDRADE, G. J. M. de; SOUZA, E. F. C.; ROSOLEM, C. A. Brachiaria species affecting soil nitrification. **Rev. Bras. Ciênc. Solo [online]**. vol.35, n.5, p. 1699-1706, 2011.

FERNANDEZ, D. S.; ASCENCIO, J. Acid phosphatase activity in bean and cowpea plants grown under phosphorus stress. **The Journal of Plant Nutrition**, New York, v.17, n.2/3, p.229-241, 1994.

FOLLMER, C. **Insights into the role and structure of plant ureases**. **Phytochemistry**, New York, v.69, p.18–28, 2008.

GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C. Biomassa microbiana e ciclagem de nutrientes. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P. E.; CAMARGO, F. A. de O. (Eds.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed., Porto Alegre: Metrópole, 2008. 654p.

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

GINZBERG, I.; DAVID, R.; SHAUL, O.; ELAD, Y.; WININGER, S.; BEN-DOR, B.; BADANI, H.; FANG, Y.; van RHIJN, P.; LI, Y.; HIRSCH, A. M.; KAPULNIK, Y. *Glomus intraradices* colonization regulates gene expression in tobacco roots. **Symbiosis**, Rehovot, v.25, p.145-157, 1998.

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

GRAHAM, M. H.; HAYNES, R. J.; MEYER, J. H. Changes in soil chemistry and aggregate stability induced by fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v.53, p.589-598, 2002.

HAWKESFORD, M., HORST, W., KICHEY, T., LAMBERS, H., SCHJOERRING, J., MOLLER, I. S., WHITE, P. Functions of Macronutrients. In: Marschner, H. **Mineral nutrition of higher plant**. 3. Ed., London, Academic Press, p. 134-190, 2010.

HINSINGER, P. Biology availability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A Review. **Plant and Soil**, Dordrecht v.237, n.2, p.173-195, 2001.

HOGAN, M. E.; SWIFT, I. E.; DONE, J. Urease assay and ammonia release from leaf tissues. **Phytochemistry**, Oxford, v. 22, p. 663-667, 1983.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. **Climate change in 1994: Radiative forcing of climate change**. Cambridge: Cambridge University Press, p.339, 1995.

JENKINS, W. R. **A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil**. **Plant Disease Rep.** Beltsville, n.48, p. 692, 1964.

KAISER, W. M.; HUBER, S. C. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.52, p.1981–1989, 2001.

KANDELER, E.; EDER, G. Effect of cattle slurry in grassland on microbial biomass and on activities of various enzymes. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.16, p.249–254, 1993.

KINGERY, W. L.; WOOD, C. W.; DELANEY, D. P.; WILLIAMS, J. C.; MULLINS, G. L. Impact of long-term land application of broiler litter on environmentally related soil properties. **J. Environmental Quality**, v.23, p.139-147, 1996.

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

LUCA, E. F.; FELLER, C.; CERRI, C. C.; BARTHÈS, B.; CHAPLOT, V.; CAMPOS, D. C.; MANECHINI, C. Avaliação de atributos físicos e estoques de carbono e nitrogênio em solos com queima e sem queima de canavial. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, p.789-800, 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: Princípios e Aplicações**. Piracicaba, POTAFOS. p.308, 1997.

MALAVOLTA E. **Fósforo na planta e sua interação com outros elementos**. In: Yamada S.; Abdala, R. S. Anais do Simpósio sobre Fósforo na Agricultura Brasileira. Piracicaba, POTAFOS, p.35-98, 2004.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres p.638, 2006.

MARCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v.159, n.1, p.89-102, 1994.

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

MATSUOKA, M.; MENDES, I. C.; LOUREIRO, M. F. Biomassa microbiana e atividade enzimática em solos sob vegetação nativa e sistemas agrícolas anuais e perenes na região de Primavera do Leste (MT). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, p.425-433, 2003.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. **Principles of plant nutrition**. 5 ed., Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.849, 2001.

MEURER, E. J. Potássio. In: Fernandes, M. S. (Org.) **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: Ed. SBCS, p.53-85, 2006.

MULDER, E. G.; BOXMA, R.; VEEN, W. L. V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate in plant tissues. **Plant and Soil**, Dordrecht v.10, p.355-355, 1959.

NOBLE, A. D.; MOODY, P.; BERTHELSEN, S. Influence of changed management of sugarcane on some soil chemical properties in the humid wet tropics of north Queensland. **Australian Journal of Soil Research**, Victoria, v.41, p.1133-1144, 2003.

NURUZZAMAN, M.; LAMBERS, H.; BOLLAND, M. D. A.; VENEKLAAS, E. J. Distribution of carboxylates and acid phosphatase and depletion of different phosphorus fractions in the rhizosphere of a cereal and three grain legumes. **Plant Soil**, Dordrecht v.281, p.109-120, 2006.

OLIVEIRA, I. P.; ARAUJO, R. S.; DUTRA, L. G. Nutrição mineral e fixação biológica de nitrogênio. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. de O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba, POTAFOS. p.169-222, 1996.

PATREZE, C. M.; CORDEIRO, L. Nitrogen-fixing and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbioses in some tropical legume trees of tribe Mimoseae. **Forest Ecology and Management**, v.196, p.275–285, 2004.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEN, C. A. Disponibilidade de Nutrientes no Solo – Decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, p.911-920, 2008.

PROVOROV, N. A.; A. Y. BORISOV, A. Y.;TIKHONOVICH, I. A. Developmental enetics and evolution of symbiotic structures in nitrogen-fixing nodules and arbuscular. **Journal of Theoretical Biology**, v.214, p.215–232, 2002.

QUAGGIO, J. A.; RAIJ, B. Van. Determinação do pH em cloreto de cálcio e da acidez total. In: RAIJ, B. Van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (eds.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agrônômico de Campinas IAC, p.181-188, 2001.

RAIJ, B. van. **Fertilidade do Solo e Adubação**. Piracicaba: CERES/ POTAFOS, p.343, 1991.

RAIJ, B. van; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas - IAC, p.285, 1996. (IAC. Boletim técnico, 100).

RAIJ, B. Van.; QUAGGIO, J. A. Determinação do fósforo, cálcio, magnésio e potássio extraídos com resina trocada de íons. In: RAIJ, B. Van; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. (eds.). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas IAC. p.189-199, 2001.

RAIJ, B. Van. Fósforo no solo e interação com outros elementos. In: YAMADA, T.; ABDALLA, S. R. (eds.) **Anais do simpósio sobre Fósforo na agricultura brasileira**. Piracicaba: POTAFOS, p.107-114, 2004.

RAMOS, A. C.; MARTINS, M. A. Fisiologia de micorrizas arbusculares. IN SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras, UFLA, p.716, 2010.

RAPOSO, R. W. C.; MURIOKA, T.; BASSO, C. L.; LAVRES JUNIOR, J.; FRANZINI, V. I. Acid phosphatase activity and leaf phosphorus content in soybean cultivars. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.61, p.439-445, 2004.

REIS, V. M.; PAULA, M. A.; DÖBEREINER, J. Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bactéria diazotrófica *Acetobacter diazotrophicus* em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, p.1933-1941, 1999.

RHEINHEIMER, D. S.; CASSOL, P. C.; KAMINSKI, J.; ANGHINONI, I. Fósforo Orgânico do Solo. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P. E.; CAMARGO, F. A. de O. (Eds.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed., Porto Alegre: Metrópole, 2008. 654p.

RICHARDSON, A. E.; GEORGE, T. S.; HENS, M.; SIMPSON, R. J. Utilization of soil organic phosphorus by higher plants. In: TURNER, B. L.; FROSSARD, E.; BALDWIN, D. S. (Eds.). **Organic phosphorus in the environment**. Wallingford: CAB International, p165-184, 2005.

ROLDÁN, A.; CARAVACA, F.; HERNANDEZ, M. T.; GARCIA, C.; SANCHEZ-BRITO, C.; VELASQUEZ, M.; TISCARENO, M. No-tillage, crop residue additions, and legume cover cropping effects on soil quality characteristics under maize in Patzcuaro watershed (Mexico). **Soil Tillage Research**, Amsterdam, v.72, p.65– 73, 2003.

ROLDAL, A.; SALINAS-GARCIA, J. R.; ALGUACIL, M. M.; CARAVACA, F. Soil enzyme activities suggest advantage of conservation tillage practices in sorghum cultivation under subtropical conditions. **Geoderma**, Amsterdam, v.129, p.178–185, 2005.

ROLDÁN, A.; SALINAS GARCÍA, J. R.; ALGUACIL, M. M.; CARAVACA, F. Soil Sustainability indicators following conservation tillage practices under subtropical maize and bean crops. **Soil & Tillage Research**, Amesterdam v.93, p.273-282, 2007.

ROSSETTO, R.; DIAS, F. L. F.; VITTI, A. C.; PRADO JUNIOR, J. P. Q. Fósforo. IN MIRANDA, L. L. D.; VASCONCELOS, A. C. M. de; LANDELL, M. G. de A. (Eds.). **Cana-de-Açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas IAC, p.882, 2008.

ROSOLEM, C. A.; MARUBAYASHI, O. M. **Seja o doutor do seu feijoeiro**. Inf. Agrônômico INPI, v.6, p.1-16, 1994.

SEGATO, S. V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba, CP 1, 4, 7, 8. p.8-55, 110-115, 220-241, 336-337, 2006.

SEGATO, S. V.; FERNANDES, C.; PINTO, A. S. **Expansão e renovação de canavial**. Piracicaba, p.352, 2007.

SILVEIRA, A. P. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Influência do tipo de solo e do fungo micorrízico vesículo-arbuscular no desenvolvimento de três cultivares de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.11, p.37-43, 1987.

SILVEIRA, A. P. D. Micorrizas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Ed.) **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p.257-282, 1992.

SILVEIRA, A. P. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Arbuscular mycorrhiza and kinetic parameters of phosphorus absorption by bean plants. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.61, p.203-209, 2004.

SIQUEIRA, J. O.; POUYÚ, E.; MOREIRA, F. M. S. Micorriza arbuscular no crescimento pós transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.23, n.5, p.569-580, 1999.

SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2. ed., Lavras: Ed. UFLA, p.729, 2006.

SIRKO, A.; BRODZIK, R. Plant ureases: roles and regulation. **Acta Biochim.**, Warszawa, v.47, n.4, p. 1189-1195, 2000.

**SOCIEDADE RURAL DEBATE PROIBIÇÃO DA QUEIMA DA CANA - 10/05/2013** –  
DCI – SP – <http://www.unica.com.br/unica-na-midia/5573206920314206514/sociedade-rural-debate-proibicao-da-queima-da-cana/>

SOURCE, A. H. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients. *New Phytologist*, Vol. 162, No. 1, p. 9-24, 2004.

SMITH, S. E.; SMITH, F. A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. **Annu. Rev. Plant Biology**, Palo Alto, v.62, 227–50, 2011.

SUBARAO, G.V.; NAKAHARA, K.; HURTADO, M.P.; ONO, H.; MORETA, D.E.; SALCEDO, A.F.; YOSHIHASHI, A.T.; ISHIKAWA, T.; ISHITANI, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YOSHIDA, M.; RONDON, M.; RAO, I.M.; LASCANO, C.E.; BERRY, W.L. & ITO, O. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. **PNAS**, v.25, p1-6, 2009.

STAUFFER, M. D.; SULEWSKI, G. Fósforo essencial para a vida. In: Yamada S.; Abdala, R. S. **Anais do Simpósio sobre Fósforo na Agricultura Brasileira**. Piracicaba; POTAFOS, p.1-12, 2004.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **User's guide statistics**: version 8.0 edition, Cary, p.956, 1999.

TABATABAI, M. A. Soil enzymes. In: WEAVER, R. W.; SCOTT, A.; BOTTOMELEY, P. J. (Eds.) *Methods of soil analysis: Microbiological and biochemical properties*. Madison. **Soil Science Society of America**, Madison, Part 2, p.778-835, 1994 (Special Publication, 5).

Tabatabai, M. A.; Bremner, J. M. **Use of p-nitrophenol phosphate in assay of soil phosphatase activity**. *Soil Biology Biochemistry*, Oxford, v.1, p.301– 307, 1969.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artemed, 2006. 722p.

TANAKA, J. P.; PIERFRANCESCO N.; MATTHIAS W. Nitrification inhibition activity, a novel trait in root exudates of Rice. **AoB Plants**, 2010.

TIAN, L.; DELL, E.; SHI, W. Chemical Composition of Dissolved Organic Matter in Agroecosystems - Correlations with Soil Enzyme Activity and Carbon and Nitrogen Mineralization. **Applied Soil Ecology**, v.46, p.426-435, 2010.

VEZZANI, F. M.; CONCEIÇÃO, P. C.; MELO, N. A.; DIECKOW, J. Matéria Orgânica e Qualidade do Solo. In: SANTOS, G. de A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P. E.;

KENNEDY, A. C.; PAPENDICK. R. I. Microbial characteristics of soil quality. *Journal of Soil and Water Conservation*. **Ankeny**, v.50, n.3, p.243-248, 1995.

VIERHEILIG H; COUGHLAN A. P.; WYSS U.; PICHEÂ Y. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, Oxford, v.64, 5004-5007, 1998.

WANG, W. H.; KOHLER, B.; CAO, F. Q.; LIU, L. H. Molecular and physiological aspects of urea transport in higher plants. **Plant Science**, Boca Raton, v.175, p.467-477, 2008

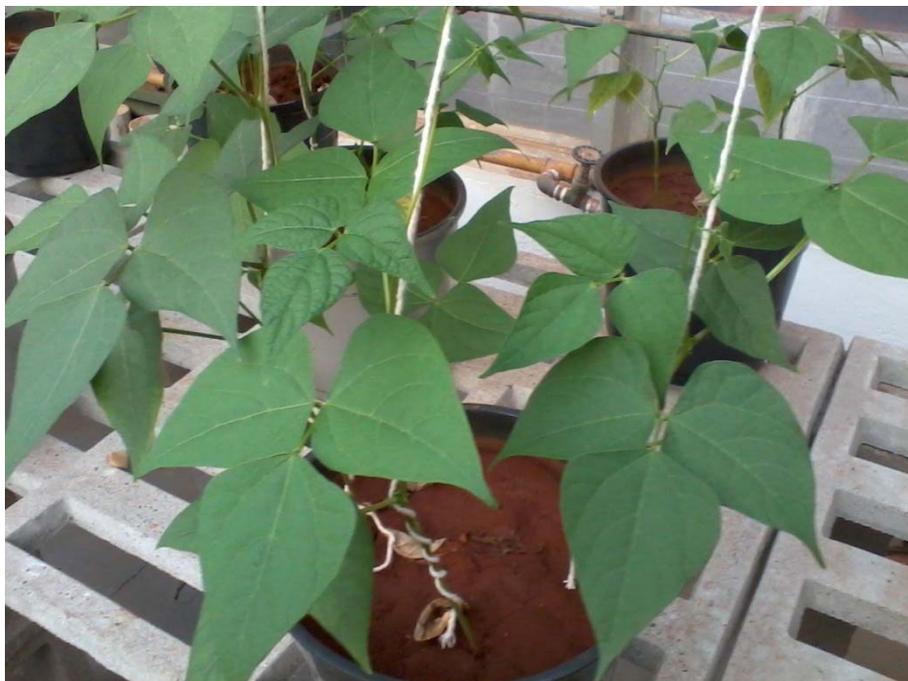
WITTE, CP. Urea Metabolism in Plants. **Plant Science**, Boca Raton, v. 180, p.431-438, 2011.

YOKOYAMA, L.P.; BANNO, K.; KLUTHCOUSKI, T. Aspectos socioeconômicos da cultura. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. (Coord.). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba, POTAFOS, p.2-4, 1996.

## 7 APÊNDICE A – FOTOS DO EXPERIMENTO



Planta de Feijão cultivada do solo de mata aos 33 dias após a semeadura



Planta de feijão cultivada em solo de 3 anos de cultivo de cana sem queima aos 33 dias após a semeadura



Planta de feijão cultivada em solo de 9 anos de cultivo de cana sem queima aos 33 dias após a sementeira



Planta de Feijão cultivada do solo de mata aos 50 dias após a sementeira



Planta de feijão cultivada em solo de 3 anos de cultivo de cana sem queima aos 50 dias após a semeadura



Planta de feijão cultivada em solo de 9 anos de cultivo de cana sem queima aos 50 dias após a semeadura



Planta de feijão cultivada em solo de 9 anos de cultivo de cana sem queima aos 54 dias após a semeadura, apresentando deficiência de N nas folhas inferiores



Comparativo entre folhas das plantas de feijão cultivadas a direita em solo de mata nativa e a esquerda em solo de 9 anos de cana sem queima aos 33 dias após a semeadura



Planta de feijão cultivada em solo de mata nativa aos 33 dias após a semeadura, apresentando deficiência de K nas folhas



Planta de feijão cultivada em solo de mata nativa aos 33 dias após a semeadura, apresentando deficiência de Mg nas folhas



Experimento aos 20 dias após a sementeira



Experimento aos 30 dias após a sementeira



Experimento aos 40 dias após a sementeira

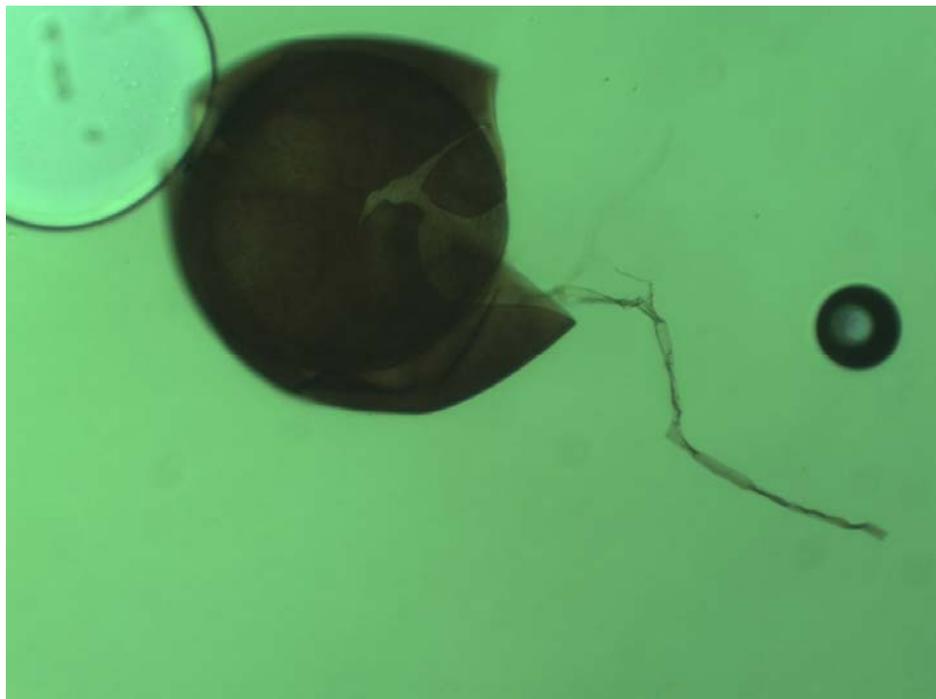


Experimento aos 55 dias após a sementeira

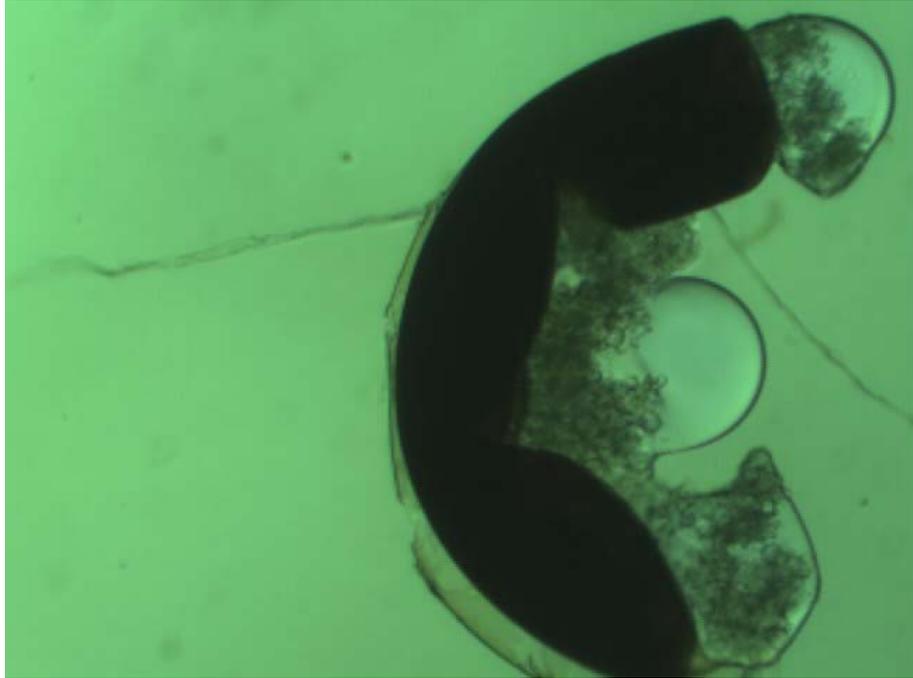
## 8 APÊNDICE B – FOTOGRAFIAS DE MICORRIZA ARBUSCULAR



Esporo de micorriza arbuscular (*Acaulospora scrobiculata*) encontrado no solo de 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo



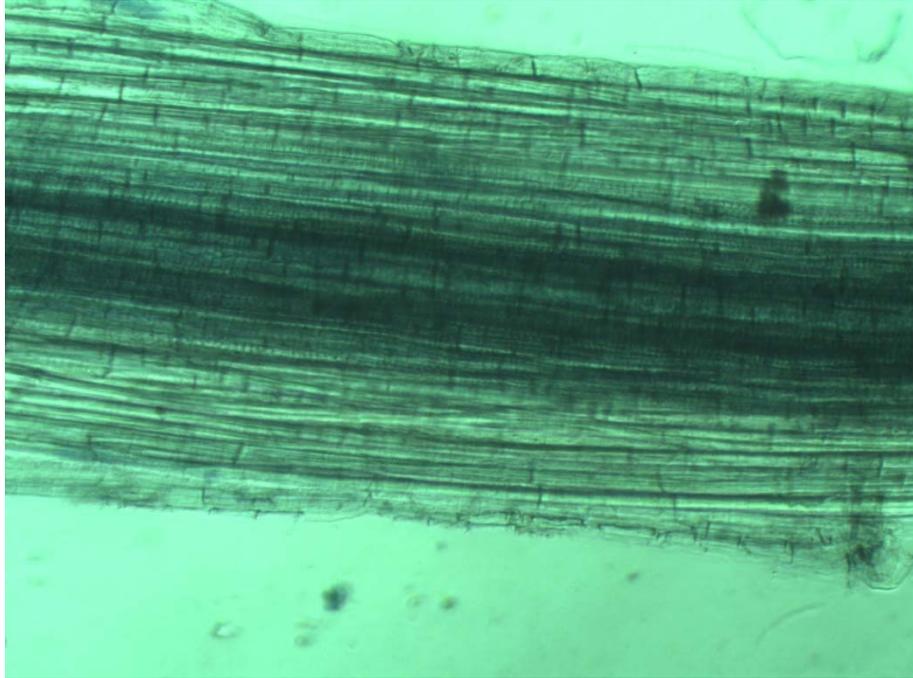
Esporo de micorriza arbuscular (não identificado) com hifa de crescimento encontrado em todos os manejos de solo



Esporo de micorriza arbuscular (não identificado) encontrado no solo de 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo



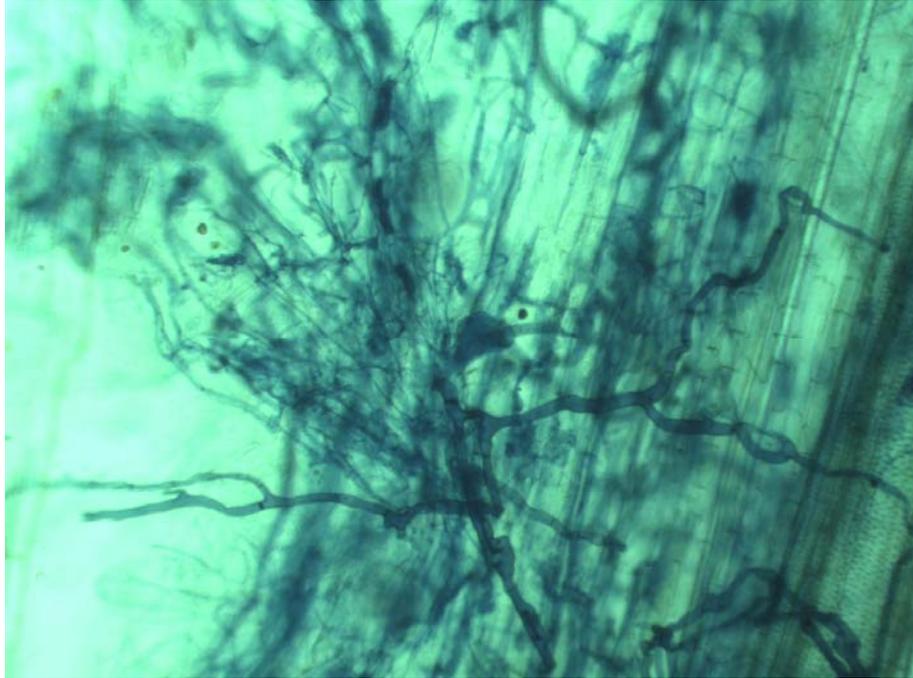
Esporo de micorriza arbuscular (não identificado) encontrado no solo de 3 e 9 anos de cana sem despalha a fogo



Raiz de feijoeiro sem colonização de micorriza arbuscular



Célula da raiz de feijoeiro colonizada com micorriza arbuscular (arbusculo)



Tecido de raiz de feijoeiro colonizado com micorriza arbuscular