### SEÇÃO III - BIOLOGIA DO SOLO

# EFEITOS ALELOPÁTICOS DE EXTRATOS VEGETAIS NA GERMINAÇÃO, COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E CRESCIMENTO INICIAL DE MILHO, SOJA E FEIJÃO<sup>(1)</sup>

Tiago Mendes Faria<sup>(2)</sup>, Francisco Guilhien Gomes Júnior<sup>(2)</sup>, Marco Eustáquio de Sá<sup>(3)</sup> & Ana Maria Rodrigues Cassiolato<sup>(3)</sup>

#### **RESUMO**

Restos vegetais e liteira podem interferir no desenvolvimento de plantas. Este trabalho objetivou avaliar os efeitos alelopáticos de extratos aquosos de Pinus sp., milheto (Pennisetum americanum (L.) Leeke) e mucuna (Stizolobium aterrimum Piper & Tracy) sobre a germinação, colonização micorrízica e crescimento inicial de milho (Zea mays L.), soja (Glycine max L.) e feijão (Phaseolus vulgaris L.). Os extratos foram elaborados utilizando folhas trituradas. O experimento in vitro empregou papel Germitest umedecido com extratos ou água destilada por sete dias. O experimento em casa de vegetação teve esquema fatorial 3 x 3 x 4, com quatro repetições: três espécies vegetais (soja, milho e feijão), três extratos aquosos (*Pinus*, milheto e mucuna) e quatro doses de extrato  $(0,0;0,5;1,0;e2,0 \text{ kg L}^{-1})$ . O substrato foi Latossolo Vermelho coletado no município de Selvíria-MS, no bioma Cerrado. Após a semeadura, os vasos receberam, a cada cinco dias, por 45 dias, 50 mL dos extratos. Para a soja, extratos de mucuna e milheto diminuíram o comprimento do hipocótilo e da radícula e os de Pinus aumentaram esses comprimentos. Em feijão, o extrato de Pinus diminuiu o comprimento do hipocótilo e da radícula, mas os extratos de mucuna e milheto aumentaram-no. O extrato do milheto reduziu a percentagem e a velocidade de germinação em feijão. Todos os extratos reduziram a colonização micorrízica e o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em soja, milho e feijão.

Termos de indexação: fungos micorrízicos arbusculares, milheto, *Pinus*, mucuna, cerrado, alelopatia, extratos vegetais.

<sup>(1)</sup> Recebido para publicação em fevereiro de 2008 e aprovado em setembro de 2009.

<sup>(2)</sup> Mestrando em Agronomia, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista – UNESP. Campus de Ilha Solteira. Avenida Brasil 56, Caixa Postal 31, CEP 15385-000 Ilha Solteira (SP). E-mails: tiagomfaria@yahoo.com.br; fggjunior@esalq.usp.br

<sup>(3)</sup> Docente da UNESP. Campus de Ilha Solteira. E-mails: mesa@agr.feis.unesp.br; anamaria@bio.feis.unesp.br

## SUMMARY: ALLELOPATHIC EFFECTS OF PLANT AQUEOUS EXTRACTS ON GERMINATION, MYCORRHIZATION AND INITIAL GROWTH OF CORN, SOYBEAN AND BEAN

Plant residues and litter may affect the plant growth. The objective of this study was to evaluate the allelopathic effects of aqueous extracts of pine (Pinus sp.), millet /Pennisetum americanum (L.) Leekel and velvet bean (Stizolobium aterrimum Piper & Tracy) on germination, mycorrhizal colonization and initial growth of corn (Zea mays L.), soybean (Glycine max L.) and bean (Phaseolus vulgaris L.). Extracts of ground leaves were prepared. For the in vitro seven day-germination test, pH-neutral paper was previously wetted with the aqueous extracts or distilled water. The greenhouse experiment was arranged in a 3 x 3 x 4 factorial design, with four replications: three plant species (soybean, corn and bean), three aqueous extracts (Pinus, millet and velvet bean) and four extract doses (0.0; 0.5; 1.0 and 2.0 kg L·1). A Red Latossol (Oxisol) collected in Selvíria, state of Mato Grosso do Sul, in the Cerrado biome was used as substrate. After sowing in pots, 50 mL of the aqueous extracts was applied every 5 days, during 45 days. Opposite to pine, extracts of velvet bean and millet reduced the hypocotyl and root length in soybean. In common bean, pine extract reduced hypocotyl and root length, contrasting to velvet bean and millet. Millet extract decreased the germination percentage and germination rate of beans. All plant extracts reduced mycorrhization and the number of spores of arbuscular mycorrhizal fungi on soybean, maize and common bean.

Index terms: arbuscular mycorrhizal fungi, millet, Pinus, velvet bean, savannah, allelopathy, plant extracts.

#### INTRODUÇÃO

A região dos Cerrados tornou-se estratégica na incorporação de novas áreas agrícolas, por sua posição geográfica e características físico-ambientais que propiciaram a expansão da produção agropecuária, baseada no pacote tecnológico da revolução verde. A incorporação de novas áreas exige o manejo correto do solo, o que, consequentemente, altera suas características químicas, físicas e biológicas. Entre os organismos afetados estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (Miller & Jastrow, 1992). Esses simbiontes atuam como extensões do sistema radicular das plantas, aumentando sua capacidade em absorver nutrientes (principalmente os íons de baixa mobilidade no solo), melhorando seu estado nutricional e fisiológico. Os FMA possuem função ecológica bastante ampla, atuando na ciclagem de nutrientes (Newman, 1988), na estabilidade de agregados do solo (Miller & Jastrow, 1992; Tisdall, 1994), na diminuição da ocorrência de doenças (Linderman, 1994) e na capacidade de suportar estresse hídrico (George et al., 1992), desempenhando, portanto, um papel fundamental na reconstrução de sistemas agrícolas mais estáveis.

Os sistemas de produção podem estar relacionados com sustentabilidade quando são ecologicamente mais corretos, priorizando o manejo dos recursos naturais. Em culturas anuais como soja, milho e feijão, a colonização micorrízica ocorre naturalmente em sistemas produtivos, porém seus efeitos benéficos

podem ser mascarados ou encobertos pela grande tecnificação na produção. A contribuição desses fungos para a agricultura, segundo Saggin Júnior & Silva (2005), tem chamado a atenção dos pesquisadores nas últimas décadas, em virtude do aumento da produção agrícola e da necessidade de se reabilitar os ecossistemas destruídos pela atividade humana.

Em programas de rotação e sucessão de culturas, é possível alterar o ambiente comparativamente a um processo de monocultura. Associar a rotação de culturas ao sistema de semeadura direta tem sido uma prática muito eficaz, pois, com o não revolvimento do solo, a palha ou restos culturais proporcionam a cobertura da superfície, protegendo o solo. Entre as práticas conservacionistas, a adubação verde apresenta-se viável e eficiente (Alvarenga et al., 1995). Deve-se considerar, no entanto, que há diferenças entre resíduos de gramíneas e de leguminosas, principalmente na relação C/N, que resultam em diferentes taxas de decomposição e de aportes de nutrientes no solo (Amabile et al., 1999).

Algumas plantas apresentam características alelopáticas, ou seja, capacidade de interferir na germinação de sementes e no desenvolvimento das plantas por meio de substâncias que são liberadas na atmosfera ou, quase sempre, no solo (Medeiros, 1990). Esses compostos liberados pelas plantas podem ser lavados, lixiviados ou volatilizados, exsudados das raízes, ou liberados durante a decomposição (Gliessman, 2000), e envolvem complexa comunicação química entre as espécies vegetais (Harborne, 1993).

A cobertura morta mantida sobre o solo no sistema de semeadura direta pode prejudicar o estabelecimento de culturas sensíveis a ela. Os efeitos deletérios podem estar relacionados a fenômenos alelopáticos pela liberação de substâncias orgânicas, denominadas aleloquímicos, durante o processo de decomposição dos resíduos (Correia & Durigan, 2006). Têm sido relatados efeitos alelopáticos de alguns dos adubos verdes empregados como cobertura morta, como a mucuna-preta sobre o feijão (Abboud & Duque, 1986) ou a alface (Peixoto et al., 2004) e o milheto sobre a soja (Correia & Durigan, 2006).

No Brasil, as espécies de *Eucalyptus* e *Pinus* são comumente utilizadas em reflorestamentos (Zanchetta & Dinis, 2006). O eucalipto tem sido citado como produtor de compostos aleloquímicos, interferindo em cultivos de hortaliças próximas às grandes áreas reflorestadas, resultando em problemas para o agricultor (Afubra & Sindifumo, 2001). O *Pinus* possui grande importância nos programas de reflorestamento no Brasil e, também, apresenta a propriedade de sintetizar aleloquímicos (Grotkopp et al., 2002), os quais, possivelmente, promovem interferência nos cultivos próximos ou, no caso de desmatamento, no local anteriormente reflorestado.

No Brasil, os estudos com alelopatia são, muitas vezes, restritos à influência de plantas cultivadas e invasoras sobre os cultivos, principalmente em manejo com rotação de culturas (Ferreira & Aquila, 2000) ou com espécies de *Eucalyptus* (Alves et al., 1999). As interferências alelopáticas no desenvolvimento de plantas daninhas têm sido as mais estudadas (Almeida, 1999; Tokura & Nóbrega, 2006) porém esses trabalhos não relatam os efeitos alelopáticos na colonização micorrízica por FMA. Em áreas intensamente manejadas, assim como em áreas degradadas, a comunidade micorrízica é amplamente afetada (Moreira & Siqueira, 2006), tornando-se importante conhecer as espécies vegetais (incluindo os adubos verdes) a serem escolhidas na recuperação dessas áreas, visto que sua utilização pode alterar as características químicas, físicas e microbiológicas do solo. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos alelopáticos de extratos aguosos de *Pinus* sp., milheto [Pennisetum americanum (L.) Leeke] e mucuna (Stizolobium aterrimum Piper & Tracy) sobre a germinação, colonização micorrízica e crescimento inicial de milho (Zea mays L.), soja (Glycine max L.) e feijão (Phaseolus vulgaris L.).

#### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em duas etapas em outubro de 2005, sendo a primeira no Laboratório de Análise e Tecnologia de Sementes do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e SócioEconomia, e, a segunda, no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos, da UNESP - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira.

Os extratos aquosos de Pinus, milheto e mucuna foram elaborados utilizando folhas, que foram destacadas e trituradas em liquidificador por 30 s, coadas e diluídas nas concentrações de: 0,0; 0,5; 1,0; e 2,0 kg  $L^{-1}$  de água.

Para a avaliação dos efeitos dos extratos sobre a germinação e o crescimento de plântulas in vitro, foi empregado papel Germitest previamente umedecido com os extratos aquosos ou água destilada para a testemunha, equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco para cada tratamento. Em cada repetição, foram usadas 50 sementes por rolo. As sementes, assim preparadas, foram primeiro submetidas a um choque térmico (sete dias em refrigerador a 1 °C) e, posteriormente, transferidas para o germinador a 25 °C, por sete dias. Sempre que necessário, foram adicionados os extratos aquosos aos rolos, via pisseta, para a manutenção do grau de umidade do papel. A condução dos testes foi realizada de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Cinco dias após a montagem do experimento, foram contadas as plântulas normais e sementes não germinadas (Marcos-Filho et al., 1994). Para o cálculo do Indice de Velocidade de Germinação (IVG), seguiu-se o proposto por Maguire (1962), empregando a fórmula: IVG =  $\sum$  Ni / Di, em que Ni é o número de plântulas no dia i, e Di, o número de dias para a germinação.

No teste de germinação, após a avaliação do número de sementes germinadas, 20 plântulas normais foram escolhidas aleatoriamente por tratamento, para as medições do comprimento do hipocótilo e da radícula, com o auxílio de régua graduada (Brasil, 1992). Posteriormente, as plântulas foram secas em estufa a 65 °C e pesadas.

Para a avaliação do crescimento vegetativo de soja (IAC 23), milho (BR 106) e feijão (Carioca), o experimento foi conduzido em casa de vegetação, com temperatura e umidade médias de 27 °C e 65 %, respectivamente. O solo utilizado foi Latossolo Vermelho (Embrapa, 1999), coletado em novembro de 2005, na camada de 0 a 0,10 m de profundidade, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE) da UNESP/Campus de Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria-MS, no bioma Cerrado. O solo foi seco ao ar, peneirado (malha de 3 mm), homogeneizado e duas amostras compostas foram separadas. Uma foi destinada à análise das propriedades químicas do solo, de acordo com Raij & Quaggio (1983), e apresentou as seguintes características: pH (CaCl<sub>2</sub>) 4,2; MO (g dm<sup>-3</sup>) 7; P (mg dm<sup>-3</sup>) 2; K, Ca, Mg, H + Al, Al, CTC e SB (mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>) 0,5; 1; 1; 19; 7; 21,1; e 2,1 respectivamente; e V (%) 10.

A outra amostra de solo foi utilizada para a avaliação do número de esporos de FMA da comunidade autóctone, empregando o método de decantação e peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), seguido da centrifugação e flutuação em sacarose (Jenkins, 1964), sendo a quantificação dos esporos realizada em placas de acrílico com anéis concêntricos, em microscópio estereoscópico (40x).

As sementes de soja, milho e feijão foram previamente tratadas com hipoclorito (0,2 %), por dois minutos, enxaguadas e semeadas em sacos plásticos (2 kg), contendo uma mistura de solo e areia (na proporção 4:1). Logo após a semeadura, os vasos, mantidos em casa de vegetação, receberam 50 mL dos respectivos extratos aquosos, sendo esse procedimento repetido a cada cinco dias.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial  $3 \times 3 \times 4$ , sendo três espécies vegetais (soja, milho e feijão), três extratos aquosos (*Pinus*, milheto e mucuna) e quatro doses de extrato (0,0; 0,5; 1,0; e 2,0 kg L<sup>-1</sup>), com quatro repetições por tratamento e 10 sementes por repetição. O número de sementes germinadas foi verificado a cada cinco dias até 15 dias da semeadura, quando foi realizado o desbaste para cinco plantas por repetição. A altura das plantas foi avaliada a cada 10 dias, até 45 dias da semeadura. Os caules e folhas foram coletados aos 45 dias da semeadura, colocados em estufa a 65 °C e pesados.

As raízes foram separadas do solo e lavadas em água corrente, e 1 g de raiz, por vaso, foi preservado em etanol 50 %. O restante do sistema radicular foi pesado para a verificação do peso da matéria fresca. Para quantificação da colonização micorrízica, as raízes preservadas foram lavadas em água corrente, cortadas em segmentos de 1 cm de comprimento, clarificadas em solução de KOH 10 %, acidificadas com HCl 1 %, coradas com azul de tripano 0,05 % e preservadas em lactoglicerol (Phillips & Hayman, 1970). Cada amostra foi distribuída sobre placa de Petri quadriculada (Giovannetti & Mosse, 1980) e avaliada, sob microscópio estereoscópio, para a colonização micorrízica, totalizando 100 segmentos de raiz por repetição.

Os dados foram analisados estatisticamente por análise de variância, com desdobramento nas interações significativas. O teste de Tukey foi empregado na comparação de médias. Foi efetuada a análise de regressão para os caracteres avaliados, considerando as doses de extratos como variável independente.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em condições de germinador, para a soja, observou-se interação significativa entre doses e extratos para comprimento de radícula e comprimento

de hipocótilo (Quadro 1), com as regressões exibindo aumento linear com a elevação da concentração dos extratos de Pinus (Figura 1). O extrato de mucuna exibiu efeitos negativos, ou seja, com o aumento das doses houve diminuição linear do comprimento de raiz e hipocótilo da soja. O extrato de milheto proporcionou os maiores valores de massa de matéria seca de plântula de soja, e o extrato de mucuna, os menores. Para percentagem de germinação e índice de velocidade de germinação da soja, não foram detectadas diferenças estatísticas entre doses, entre extratos ou para a interação. Assim como neste trabalho, Correia et al. (2005) concluíram que não houve interferência na germinação e na velocidade de germinação, e Maraschin-Silva & Aquila (2006) não verificaram efeito dos extratos de folhas de espécies arbóreas na percentagem de germinação de alface.

O extrato de milheto causou aumentos no comprimento de radícula e no comprimento de hipocótilo, porém não lineares, na cultura do milho (Figura 2). Contrariando os resultados obtidos neste trabalho, Rodrigues (2002) constatou, durante o desenvolvimento inicial, redução no tamanho do eixo hipocótilo-raiz de Achyrocline satureoides, Crysophilum gonocarpum e outras forrageiras por extratos de Myrciaria cuspidata Berg. (Camboim). Prates et al. (2000) também relataram que o crescimento de radícula de arroz (Oryza sativa), rabanete (Raphanus sativus), mostarda (Brassica rapa) e feijão (Phaseolus vulgaris) foi estimulado pela mimosina.

Resultados semelhantes foram relatados por Almeida & Rodrigues (1985), que, em ensaios com germinação de soja e outras culturas, observaram que extratos aquosos de trigo e aveia não interferiram na germinação das espécies testadas, mas acarretaram redução no comprimento de raiz e da parte aérea das plântulas, possivelmente devido a efeitos alelopáticos. Alterações no padrão de germinação, segundo Ferreira & Aquila (2000), podem resultar de efeitos sobre a permeabilidade das membranas, a respiração, a conformação de enzimas e de receptores, entre outros, ou, ainda, pela combinação desses fatores.

Neste trabalho, no entanto, extratos de *Pinus* e milheto proporcionaram incremento no comprimento de radícula e no comprimento de hipocótilo da soja (Figura 1). Esse efeito estimulador do extrato aquoso pode indicar que nem todas as substâncias liberadas pelas plantas são inibidoras e, ao contrário, podem ser estimulantes, como os nutrientes minerais, aminoácidos e ácidos orgânicos, carboidratos e reguladores de crescimento (Tukey Júnior, 1969).

Quanto ao milho, não foram verificadas diferenças significativas para o índice de velocidade de germinação e para a percentagem de germinação (Quadro 1), possivelmente porque as substâncias aleloquímicas presentes nos extratos não interferiram na germinação do milho. O comprimento de radícula e o comprimento de hipocótilo (Figura 2) mostraram

Quadro 1. Médias, coeficientes de variação (CV) e teste F, para massa de matéria seca de plântula (MSP), comprimento de radícula (CRAD), comprimento de hipocótilo, percentagem de germinação (PGER) e índice de velocidade de germinação (IVG) de soja, milho e feijão, em condições de germinador, por sete dias

Tratamento	MSP	CRAD CHIP		PGER	IVG	
	g	cı	n	%	plântulas dia-1	
Extratos	8		oja		<u>.</u>	
Milheto	0,89 a	2,21 b	2,25 b	79,50	13,59	
Pinus	0,86 ab	1,64  b	1,75  b	80,25	13,75	
Mucuna	0,80 b	3,72 a	3,55 a	81,37	13,91	
Extratos (E)	$4,39^{*}$	23,92**	31,84**	$14,25^{\mathrm{ns}}$	$0.74^{\rm ns}$	
Doses (D)	$4,51^{**}$	$11,15^{**}$	11,22**	$10{,}97^{\mathrm{ns}}$	$0,63^{\rm ns}$	
$\mathbf{E} \times \mathbf{D}$	$0.83^{\rm ns}$	$7,41^{**}$	8,98**	$27,47^{\mathrm{ns}}$	$1,40^{\rm ns}$	
CV (%)	10,27	34,76	26,04	5,48	5,42	
Extratos		Mi	lho			
Mucuna	2,41	3,76	3,43	98,25	16,79	
Milheto	2,37	3,82	3,40	98,37	16,76	
Pinus	2,30	4,55	4,26	97,75	16,16	
Extratos (E)	$1,89^{ m ns}$	$0.96^{\mathrm{ns}}$	$1,17^{\mathrm{ns}}$	$0,45^{ m ns}$	$1,15^{\mathrm{ns}}$	
Doses (D)	$15,20^{**}$	$2,56^{\mathrm{ns}}$	$1,32^{\mathrm{ns}}$	$2,97^{**}$	$1,26^{\mathrm{ns}}$	
$\mathbf{E} \times \mathbf{D}$	$5{,}25^*$	3,76*	$2{,}94^*$	$0.33^{\rm ns}$	$0.75^{\mathrm{ns}}$	
CV (%)	6,94	44,41	48,51	2,01	7,92	
Extratos		Fei	ião			
Pinus	0,81	1,61	1,63	95,62 a	16,39 a	
Mucuna	0,76	1,97	2,01	91,62 b	15,68 b	
Milheto	0,81	1,61	1,86	90,25 b	15,47 b	
Extratos (E)	$0,63^{\mathrm{ns}}$	$0.49^{\mathrm{ns}}$	$2,08^{\mathrm{ns}}$	7,27**	7,31**	
Doses (D)	$1,07^{\mathrm{ns}}$	$1{,}09^{\mathrm{ns}}$	$1,10^{\mathrm{ns}}$	19,61**	19,59**	
$\mathbf{E} \times \mathbf{D}$	0.38 ns	$1,26^{\mathrm{ns}}$	$1,11^{\rm ns}$	2,70*	$2,74^{*}$	
CV (%)	18,13	38,66	29,26	4,47	4,50	

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %. Médias de quatro repetições. \*\* e \*: significativos a 1 e 5 %, respectivamente; ns. não significativo.

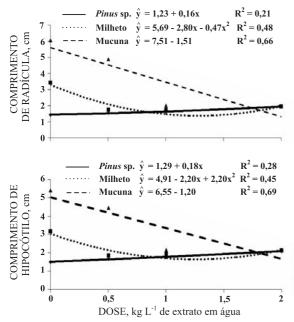


Figura 1. Comprimento de radícula e de hipocótilo de soja em função da aplicação de quatro doses de extrato aquoso de *Pinus*, milheto e mucuna, em condições de germinador, por sete dias a 25 °C; médias de quatro repetições.

respostas semelhantes ao incremento da concentração dos extratos. Doses crescentes de extrato de *Pinus* proporcionaram diminuição no comprimento de radícula e no comprimento de hipocótilo do milho. Os extratos de mucuna, no entanto, causaram um comportamento contrário, ou seja, o aumento das doses acarretou incremento para as mesmas variáveis (Quadro 1).

O efeito alelopático, muitas vezes, não é percebido sobre a percentagem de germinação, que indica o percentual final de germinação no tempo, mas sobre o índice de velocidade de germinação, que indica o tempo necessário para a germinação, ou sobre outro parâmetro do processo (Ferreira & Aguila, 2000). Neste trabalho, a germinação do feijão foi menor na presença dos extratos de mucuna e milheto do que nos de Pinus, sendo os menores valores observados na dose de extrato de 1 kg  $\rm L^{\text{-}1}$  (Figura 3). Teixeira (2004) também observou redução na germinação de feijão proporcionada pela palhada do feijão-de-porco em plantio direto. Tokura & Nóbrega (2005) verificaram que os extratos aguosos de plantas de trigo, aveiapreta, milheto, nabo forrageiro e colza apresentaram efeito alelopático em plântulas de milho.

Para as variáveis altura e massa seca de parte aérea de plantas de soja, não foram detectadas

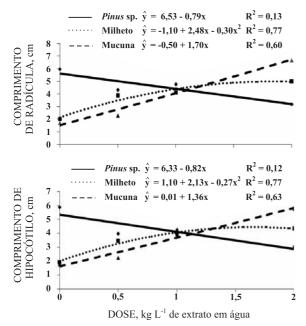


Figura 2. Comprimento de radícula e de hipocótilo de milho em função da aplicação das quatro doses de extrato aquoso de *Pinus*, milheto e mucuna, em condições de germinador, por sete dias a 25 °C; médias de quatro repetições.

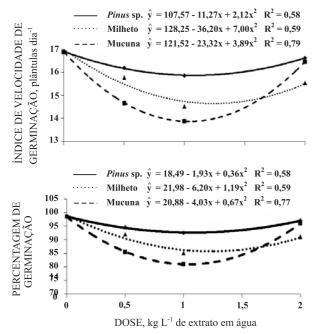


Figura 3. Índice de velocidade de germinação e percentagem de germinação de feijão em função da aplicação das quatro doses de extrato aquoso de *Pinus*, milheto e mucuna, em condições de germinador, por sete dias a 25 °C; médias de quatro repetições.

diferenças significativas entre extratos, entre doses ou para as interações. Os extratos de mucuna, seguidos pelos de milheto, proporcionaram as maiores alturas e massas secas de parte aérea das plantas de milho, enquanto o aumento das doses de extrato de milheto acarretou elevação nos valores de massa seca da parte aérea de feijão (Quadro 2 e Figura 5).

Em muitos estudos, observa-se um efeito alelopático mais pronunciado sobre o desenvolvimento inicial de plântulas (Aquila, 2000). O reduzido efeito inibitório dos extratos sobre o milho contrapõe os relatos de Smith & Fowden (1966), que verificaram efeito negativo no crescimento inicial de milho utilizando extrato aquoso de feijão-mungo (*Phaseolus aureus*), devido à liberação do composto fenólico denominado mimosina.

Foram verificadas diferenças significativas para colonização micorrízica em plantas de soja, com as maiores percentagens observadas para extratos de *Pinus* e mucuna. Interações significativas entre extratos x doses foram encontradas para números de esporos (Quadro 2). O extrato de *Pinus* acarretou um declínio no número de esporos até a dose de 1,0 kg L<sup>-1</sup>; a partir desse ponto, houve favorecimento da esporulação. O efeito dos extratos de mucuna e milheto sobre o número de esporos foi parecido, ocorrendo diminuição com o aumento das doses (Figura 4). Para o feijão, a colonização micorrízica foi influenciada positivamente pelo extrato de milheto, e interações significativas foram detectadas para números de esporos (Quadro 2 e Figura 5).

Foi observado em soja declínio do número de esporos conforme o aumento da dose dos extratos de mucuna e milheto (Figura 4). O extrato de *Pinus* proporcionou uma rápida queda nos números de esporos até a dose de 1,0 kg L<sup>-1</sup>, a qual foi seguida de uma ascensão na dose de 2,0 kg L<sup>-1</sup>. A adição desses extratos,

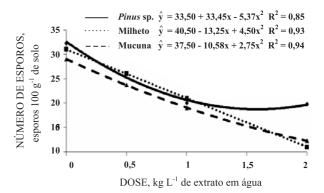


Figura 4. Número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em cultura de soja em função da aplicação de quatro doses de extrato aquoso de *Pinus*, milheto e mucuna, em condições de casa de vegetação, por 45 dias; médias de quatro repetições.

Quadro 2. Médias, coeficientes de variação (CV) e teste F para altura de planta (ALT), massa seca de parte aérea (MSPA), massa fresca de sistema radicular (MFSR), percentagem de germinação (PGER), índice de velocidade de germinação (IVG), colonização micorrízica (COL) e número de esporos em 100 g<sup>-1</sup> de solo (NESP), para soja, milho e feijão, em condições de casa de vegetação, por 45 dias

Tratamento	ALT	MSPA	MFSR	PGER	IVG	COL	NESP
	cm	g	;	. %	plântulas dia <sup>-1</sup>	%	
T			So.	ja			
Extratos		2.04		0.4.0.	0.00	20.00	0.4.50
Pinus	20,75	2,61	7,51	$21,\!25$	0,28	29,00 a	24,50 a
Mucuna	24,43	2,54	7,43	18,12	0,26	26,68 a	22,37 b
Milheto	26,06	2,18	6,00	18,12	0,23	22,56 b	21,00 b
Extratos (E)	$2,48^{\mathrm{ns}}$	$0.73^{\rm ns}$	$2,01^{\rm ns}$	$0.30^{\rm ns}$	$0.31^{\text{ns}}$	10,69**	11,06**
Doses (D)	$1,08^{\mathrm{ns}}$	$1,34^{\mathrm{ns}}$	4,53**	9,75***	6,37**	7,76**	129,61**
$\mathbf{E} \times \mathbf{D}$	$34{,}06^{ m ns}$	$0.92^{\mathrm{ns}}$	$2,55^{ m ns}$	$0.23^{\mathrm{ns}}$	$0.25^{\mathrm{ns}}$	$1,49^{ m ns}$	4,07**
CV (%)	12,12	32,11	29,09	69,01	76,79	15,29	9,37
Extratos			Mil	ho			
Pinus	32,06 b	0,79  b	27,24	85,00	1,54	67,31 a	61,12 a
Mucuna	42,18 a	0,96 a	32,45	87,50	1,50	53,87 b	43,50 b
Milheto	39,68 a	0,93 ab	30,75	58,62	1,58	69,18 a	61,62 a
Extratos (E)	11,89**	4,30**	$2,60^{\mathrm{ns}}$	$0.14^{\mathrm{ns}}$	$0.42^{\mathrm{ns}}$	35,23**	16,85**
Doses (D)	$3.06^{\mathrm{ns}}$	12,61**	$1.32^{\mathrm{ns}}$	$1.19^{\mathrm{ns}}$	$1,68^{\mathrm{ns}}$	$1.95^{\mathrm{ns}}$	$0.70^{\mathrm{ns}}$
ExD	$1.99^{ m ns}$	$3.01^{\mathrm{ns}}$	$3.08^{\mathrm{ns}}$	$0.39^{\mathrm{ns}}$	$0,13^{\mathrm{ns}}$	$1.51^{\mathrm{ns}}$	$1,12^{\mathrm{ns}}$
CV (%)	16,10	19,11	21,86	15,94	15,80	8,86	18,15
Extratos			Fei	jão			
Pinus	21,06	1,28 ab	7,69	51,25	0,85	37,62  b	41,25 b
Mucuna	22,31	1,01 b	8,75	54,37	0,97	36,43 b	43,43 b
Milheto	23,37	1,48 a	8,23	50,00	0,85	45,31 a	52,56 a
Extratos (E)	$2{,}95^{ m ns}$	5,32**	$0.55^{\mathrm{ns}}$	$0.32^{\mathrm{ns}}$	$0.93^{\rm ns}$	26,52**	11,02**
Doses (D)	6,28**	4,71**	$3,73^{\mathrm{ns}}$	6,67**	8,26**	58,75**	30,57**
ExD	$1,21^{\rm ns}$	5,48**	$0.82^{\mathrm{ns}}$	$0.51^{\mathrm{ns}}$	$0.83^{\rm ns}$	$0.16^{\mathrm{ns}}$	4,05**
CV (%)	12,12	32,11	34,48	30,69	30,96	9,42	15,80

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 %. Médias de quatro repetições. \*\* e \*: significativos a 1 e 5 %, respectivamente; ns: não significativo.

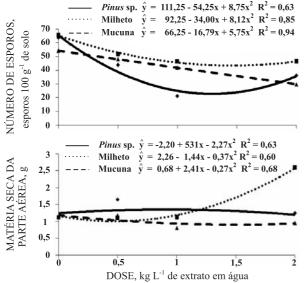


Figura 5. Número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares e matéria seca de parte aérea em cultura de feijão em função da aplicação de quatro doses de extrato aquoso de *Pinus*, milheto e mucuna, em condições de casa de vegetação, por 45 dias; médias de quatro repetições.

possivelmente contendo compostos alelopáticos, pode ter provocado alterações no meio, tornando-o não favorável aos FMA, e, dessa forma, acarretado aumento da esporulação.

Os estudos de efeitos alelopáticos e a identificação das plantas que os possuem assumem grande importância na determinação de práticas culturais e do manejo mais adequado (Carvalho et al., 1996). Entretanto, ainda são necessários estudos referentes a formas de extração, tipos de extratores, tempo de extração e doses de aplicação, além da parte das plantas a ser empregada, pois baixo efeito fitotóxico pode ocorrer pelas baixas concentrações dos compostos inibidores presentes nos extratos testados.

#### CONCLUSÕES

- 1. Extratos de mucuna e milheto diminuíram e os extratos de *Pinus* aumentaram o comprimento do hipocótilo e da radícula da soja.
- 2. Os extratos de mucuna e milheto aumentaram, mas o de *Pinus* diminuiu o comprimento de hipocótilo e o comprimento de radícula do feijão.

- 3. A adição de extratos de milheto diminuiu a percentagem de germinação e a velocidade de germinação em feijão.
- 4. Todos os extratos reduziram a colonização micorrízica e o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em soja, milho e feijão.

#### LITERATURA CITADA

- ABBOUD, A.C.S. & DUQUE, F.F. Efeitos de materiais orgânicos e vermiculita sobre a sequência feijão-milhofeijão. Pesq. Agropec. Bras., 21:227-236, 1986.
- AFUBRA & SINDIFUMO. Preservar o meio ambiente é compromisso de todos: Manual de reflorestamento. Santa Cruz do Sul, 2001. 20p. (Boletim Técnico, 20)
- ALMEIDA, F.S. Efeitos alelopáticos de resíduos vegetais. Pesq. Agropec. Bras., 26:221-236, 1991.
- ALMEIDA, F.S. Alelopatia e as plantas. Londrina, IAPAR, 1988. 68p. (Circular, 53)
- ALMEIDA, F.S. & RODRIGUES, B.N. Plantio direto. In: FUNDAÇÃO INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. Guia de herbicidas: Contribuição para o uso adequado em plantio direto e convencional. Londrina, IAPAR, 1985. p.341-399.
- ALVARENGA, R.C.; COSTA, L.M.; MOURA-FILHO, W. & REGAZZI, A.J. Características de alguns adubos verdes de interesse para a conservação e recuperação de solos. Pesq. Agropec. Bras., 30:175-185, 1995.
- ALVES, P.L.C.A.; TOLEDO, R.E.B. & GUSMAN, A.B. Allelopathic potencial of *Eucaliptus* spp. In: NARWALL, S.S., ed. Allelopathy update. Enfield: Sci., 1999. p.131-148
- AMABILE, R.F.; FANCELLI, A.L. & CARVALHO, A.M. Absorção de N, P e K por espécies de adubos verdes cultivadas em diferentes épocas e densidades num Latossolo Vermelho-Escuro argiloso sob Cerrado. R. Bras. Ci. Solo, 23:837-845, 1999.
- AQÜILA, M.E.A. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. Iheringia, Série Bot., 53:51-66, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília, SNDA/DNDU/ CLAU, 1992. 365p.
- CORREIA, N.M.; CENTURION, M.A.P.C. & ALVES, P.L.C.A. Influência de extratos aquosos de sorgo sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas de soja. Ci. Rural, 35:498-503, 2005.
- CARVALHO, G.J.; ANDRADE, L.A.B.; GOMIDE, M. & FIGUEIREDO, P.A.M. Potencialidades alelopáticas de folhas verdes mais ponteiro de cana-de-açúcar em diferentes concentrações de matéria seca, na germinação de sementes de alface. Ciências, 5:19-24, 1996.

- CORREIA, N.M. & DURIGAN, J.C. Influência do tipo e da quantidade de resíduos vegetais associados a herbicidas residuais no desenvolvimento da cultura da soja. Bragantia, 65:421-432, 2006.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA -EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, 1999. 412p.
- FERREIRA, A.G. & AQÜILA, M.E.A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. R. Bras. Fisiol. Veg., 12:175-204, 2000. (Edição Especial)
- GEORGE, E.; HAUSSLER, K.; KOTHARI, S.K.; LI, X.L. & MARSHNER, H. Contribution of mycorrhizal hyphae to nutrient and water uptake of plants. In: READ, D.J.; LEWIS, D.H.; FITTER, A.H. & ALEXANDER, I.J. Mycorrhizas in ecosystems. Wallingford, CABI, 1992. p.42-47.
- GERDEMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc., 46:234-244, 1963.
- GIOVANNETTI, J.W. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol., 48:489-500, 1980.
- GLIESSMAN, S.R. Agroecologia: Processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 653p.
- GROTKOPP, E.; REJMÁNEK, M. & ROST, T.L. Toward a causal explanation of plant invasiveness: Seedling growth and life-history strategies of 29 pine (*Pinus*) species. Am. Naturalist, 159:398-419, 2002.
- HARBORNE, J.B. Introduction to ecological biochemistry. London, Academic Press, 1993. 387p.
- JENKINS, W.R.b A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Dis. Rep., 48:692, 1964.
- LINDERMAN, R.G. Role of VAM fungi on biocontrol. In: PFLEGER, F.L. & LINDERMAN, R.G. Mycorrhizae and plant health. St. Paul, APS Press, 1994. p.1-25.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination and selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci., 2:176, 1962.
- MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D. & CARVALHO, N.M. Teste de vigor em sementes. Jaboticabal, FUNEP, 1994. p.103-132.
- MARASCHIN-SILVA, F. & AQUILA, M.A.E. Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. R. Árvore, 30:547-555, 2006.
- MEDEIROS, A.R.M. Alelopatia: Importância e suas aplicações. Hortisul, 1:27-32, 1990.
- MILLER, R.M. & JASTROW, J.D. The application of VA mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. In: ALLEN, M.F. Mycorrhizal functioning: An integrative plant-fungal process. New York, Chapmann and Hall, 1992. p.438-467.

- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O., eds. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2006. 729p.
- NEWMAN, E.I. Mycorrhizal links between plants: Theirs functioning and ecological significance. Adv. Ecol. Res., 18:243-270, 1988.
- PEIXOTO, H.F.N.; DINIZ, B.N. & VIDAL, M.C. Ação alelopática da parte aérea de espécies de adubos verdes na germinação da alface. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 56., Viçosa, MG, 2004. Anais. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2004. CD ROM.
- PRATES, H.; PAES, J.M.V.; PIRES, N.M.; PEREIRA FILHO, I.A & MAGALHĀES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. Pesq. Agropec. Bras., 35:999-914, 2000.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesiculararbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc., 55:158-161, 1970.
- RAIJ, B.van & QUAGGIO, J.A. Métodos de análises de solos para fins de fertilidade. Campinas, Instituto Agronômico de Campinas, 1983. 31p. (Boletim Técnico, 81).
- RODRIGUES, K.C.S. Verificação da atividade alelopática de *Myrciaria cuspidata* Berg. (Camboim). Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002. 78p. (Tese de Mestrado)
- SMITH, I.K. & FOWDEN, L. A study of mimosine toxicity in plants. J. Exper. Bot., 17:750-761, 1966.

- SAGGIN JÚNIOR, O.J. & SILVA, E.M.R. Micorriza arbuscular: papel, funcionamento e aplicação da simbiose. In: AQUINO, A.M. & ASSIS, R.L., coords. Processos biológicos no sistemas solo-planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p.101-150.
- TEIXEIRA, C.M. Diferentes palhadas e doses de nitrogênio no plantio direto do feijoeiro. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2004. 89p. (Tese de Mestrado)
- TISDALL, J.M. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. In: ROBSON, A.D. et al. Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry. Dordrecht, Kluwer Academic Press, 1994. p.115-121. (Developments in Plant and Soil Sciences, 56)
- TOKURA, L.K. & NÓBREGA, L.H.P. Potencial alelopático de cultivos de cobertura vegetal no desenvolvimento de plântulas de milho. Acta Sci. Agron., 27:287-292, 2005.
- TOKURA, L.K. & NÓBREGA, L.H.P. Alelopatia em cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. Acta Sci. Agron., 28:379-384, 2006.
- TUKEY JUNIOR, H.B. Implications of allelopathy in agricultural plant science. Bot. Rev., 35:1-16, 1969.
- ZANCHETTA, D. & DINIZ, F.V. Estudo da contaminação biológica por *Pinus* spp. em três diferentes áreas na Estação Ecológica de Itirapina (SP, Brasil). R. Inst. Flor., 18:12-14, 2006.