

FUNGOS MICORRÍZICOS E ATIVIDADE MICROBIANA EM SOLO CULTIVADO COM ASSA-PEIXE, CONFREI E PICÃO

Caroline Lermen¹, Elisangela Yumi Sugauara¹, Keila Fernanda Raimundo¹,
Luciane Neris Cazella¹, Meire Pereira de Souza Ferrari¹, Rosângela Rumi Sugauara¹,
Sonivaldo Ruzzene Beltrame¹ e Odair Alberton²

¹Pós-graduandos do Programa de Biotecnologia Aplicada à Agricultura; Universidade Paranaense – UNIPAR, Umuarama – PR. E-mail: carolinelermen@hotmail.com; elisangelay2009@bol.com.br; ke_fer25@yahoo.com.br; lucianecazella@hotmail.com; meire.ferrari@ifpr.edu.br; rosangelasvet@bol.com.br; sbelt78@hotmail.com.

²Docente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura; Universidade Paranaense – UNIPAR, Umuarama – PR. E-mail: odair@unipar.br.

RESUMO: As associações micorrízicas melhoram a estruturação e estabilidade de agregados em solos, ampliam a capacidade de absorção de nutrientes e a resistência das plantas às condições adversas, otimizando a sustentabilidade da produção agrícola. O objetivo deste estudo foi avaliar a micorrização e a atividade microbiana em solo cultivado com as plantas medicinais Vernonia polyanthes Less. (assa-peixe), Symphytum officinale L. (confrei) e Bidens sulphurea (Cav.) Sch. Bip. (picão). O solo e raízes foram coletados no Horto Medicinal da UNIPAR, em Umuarama, na profundidade de 0-10 cm, com 3 repetições. Foram analisados: qualidade do solo; densidade de esporos; colonização radicular por fungos micorrízicos arbusculares (FMA); respiração basal do solo (RBS); carbono da biomassa microbiana (CBM); e quociente metabólico microbiano do solo (qCO_2). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan ($p \leq 0,05$). No cultivo das três espécies, verificou-se solo com média acidez e valores não significativos para CBM e qCO_2 . O confrei apresentou os melhores resultados para CBM (201,07 mg C kg⁻¹), densidade de esporos (1,61 g⁻¹ de solo seco) e RBS (1,57 mg C-CO₂ kg solo⁻¹ hora⁻¹), enquanto a colonização radicular foi maior em picão (57,57 g⁻¹ de solo seco). Conclui-se que a densidade de esporos e a colonização radicular por FMAs foi superior no cultivo das plantas confrei e picão, comparado com o cultivo de assa-peixe. A qualidade do solo foi menor no cultivo com assa-peixe.

PALAVRAS-CHAVE: esporos, colonização radicular, qualidade do solo, microbiota do solo.

FUNGI MYCORRHIZAL AND MICROBIAL ACTIVITY IN SOIL CULTIVATED WITH ASSA-PEIXE, COMFREY AND YELLOW COSMOS

ABSTRACT: Mycorrhizal associations improve the structure and aggregate stability in soils, increase the nutrient absorption capacity and resistance of plants to adverse conditions, optimizing the sustainability of agricultural production. The aim of this study was to evaluate the mycorrhizal and microbial activity in soil cultivated with medicinal plants Vernonia polyanthes Less., Symphytum officinale L. and Bidens sulphurea (Cav.) Sch. Bip. The soil and roots were taken from the Medicinal Garden at UNIPAR, in Umuarama, at 0-10 cm depth, with 3 repetitions. It was analyzed: soil quality; spore density; root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF); soil basal respiration (SBR); microbial biomass carbon (MBC); and soil microbial metabolic quotient (qCO_2). The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Duncan's test ($p \leq 0.05$). In cultivation of these three species, it has been verified soil with medium acidity and no significant values for MBC and qCO_2 . The

*comfrey has showed the best results for MBC (201.07 mg C kg⁻¹), spore density (1.61 g⁻¹ dry soil) and SBR (1.57 mg C-CO₂ kg soil⁻¹ hour⁻¹), while yellow cosmos presented higher root colonization than the other two plants (57.57 g⁻¹ dry soil). It was concluded that the spore density and root colonization by AMF was higher in the cultivation of plants *S. officinale* or *B. sulphurea*, compared with the cultivation of *V. polyanthes*. The soil quality was lower in cultivation with *V. polyanthes*.*

KEY WORDS: spores, root colonization, soil quality, soil microbial.

INTRODUÇÃO

A micorriza arbuscular é uma associação mutualista entre determinados fungos do solo e raízes de plantas, ou seja, é a simbiose planta micro-organismo mais comum, na qual 70 a 90% das plantas terrestres são hospedeiros desse grupo de fungos (Smith e Read, 2008; Engel e Parrotta, 2003). Essa associação é responsável pela absorção de nutrientes, principalmente fosfato, aquisição de água, promoção da resistência das plantas a diversos estresses bióticos e abióticos e, ainda, colabora de forma importante para o ciclo global do carbono (C) (Smith e Read, 2008).

A contribuição das plantas na simbiose é a fonte de carboidratos para os fungos, cerca de 20% dos produtos da fotossíntese das plantas terrestres sejam consumidos pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) (Bago et al., 2000); além disso, trata-se de uma associação imprescindível para o resgate e manutenção da integridade de um ecossistema florestal degradado por atividades humanas (Engel e Parrotta, 2003).

A microbiota do solo é resultado de fatores físicos, químicos e biológicos, como as interações negativas (competição, parasitismo, predatório e amensalismo) e positivas (simbiose, protocooperação e comensalismo), proporcionando um equilíbrio dinâmico. Solos com elevadas populações de micro-organismos podem ser um eficiente mecanismo de proteção às plantas contra organismos patogênicos, pois maiores são as chances de serem eliminados pelas relações antagônicas. Já os solos degradados, que possuem baixo teor de matéria orgânica (MO), fornecem condições de desenvolvimento e estabelecimento de patógenos (Nogueira e Silva Filho, 2010). A micorrização é uma associação fundamental na agricultura orgânica, resultando na ação direta do fungo na absorção de nutrientes e indireta na fixação biológica de nitrogênio, mineralização e/ou solubilização de nutrientes na micorrizosfera; além disso, atua na proteção contra fungos patogênicos e na produção do crescimento vegetal, fornecendo benefícios ao solo e plantas (Nogueira e Silva Filho, 2010).

A MO, juntamente com o fósforo (P), influencia diretamente a atividade microbiológica do solo, pois é fonte de C e energia para a biomassa microbiana (Kaschuk et al., 2010). Essa, por sua vez, é considerada a parte viva e mais ativa da MO, sendo constituída por fungos, bactérias e actinomicetos, representando cerca de 2 a 5% de C orgânico e 1 a 5% do N total do solo (Smith e Paul, 1990); além disso, controla a decomposição e o acúmulo de MO e as transformações envolvendo os nutrientes minerais (Singh et al., 1989).

Vários estudos foram realizados sobre a associação micorriza arbuscular e seu efeito no aumento da produção vegetal (Smith e Read, 2008); porém, pouco se conhece sobre a associação destes micro-organismos com plantas medicinais. Essas têm sido utilizadas desde tempos antigos como medicamentos para o tratamento de várias doenças e, apesar do grande avanço na medicina, as plantas ainda contribuem nos cuidados com a saúde (Matos, 1994). Dentre algumas espécies medicinais, destacam-se as plantas *Vernonia polyanthes* Less., *Symphytum officinale* L. e *Bidens sulphurea* (Cav.) Sch. Bip.

O uso de plantas medicinais como ferramentas terapêuticas tem acompanhado a evolução da humanidade. Desde o início das civilizações os povos utilizavam plantas para tratar numerosas doenças causadas por diferentes agentes patológicos. Atualmente, vários produtos à base de plantas medicinais foram colocados no mercado, devido principalmente à forte tendência da moda naturalista e o alto custo dos medicamentos industrializados (Maciel et al., 2002).

O Brasil conta com uma fantástica diversidade biológica de plantas com propriedades terapêuticas de fácil acesso à população. Apesar desta acessibilidade e fartura em espécies vegetais com propriedades terapêuticas, há decorrência de uso indevido e indiscriminado que pode dar origem a intoxicações agudas ou crônicas. Portanto, é fundamental pesquisas que possibilitem definir o perfil químico, toxicológico e farmacológico dessa riqueza biológica (Maciel et al., 2002). Neste sentido, cada vez mais pesquisadores de diversas áreas são atraídos pelas substâncias naturais produzidas pelas espécies vegetais por sua importância terapêutica ou por sua toxicidade (Simões et al., 2004).

A planta *Vernonia polyanthes* Less., da família Asteraceae, popularmente conhecida como assa-peixe, é um arbusto grande, perene, ereto, pouco ramificado, rizomatoso, de caules pubescentes de coloração acizentada, nativo da Bahia e Minas Gerais até Santa Catarina, principalmente na Orla Atlântica. Planta amplamente distribuída, principalmente em áreas abertas como beira de estradas, pastagens e terrenos baldios, onde é útil para apicultores e indesejável para pecuaristas (Lorenzi e Abreu Matos, 2008).

Symphytum officinale L. (confrei) é uma Boraginaceae, de clima temperado que foi introduzido no Brasil e se adaptou facilmente às regiões de clima tropical. O plantio deve ser realizado em solos livres de contaminações (metais pesados, resíduos químicos e coliformes), a água de irrigação deve ser limpa e de boa qualidade, o cultivo deve ser preferencialmente orgânico, sem aplicação de agrotóxicos, com rotação de culturas, diversificação de espécies, adubação orgânica e verde, controle natural de pragas e doenças (Corrêa Júnior et al., 1994).

A espécie *Bidens sulphurea* (Cav.) Sch. Bip., pertencente à família Asteraceae, é uma herbácea anual, ereta, muito ramificada, originária do México, intensamente disseminada e naturalizada no território brasileiro. Popularmente é conhecida como cósmo-amarelo, picão-grande, picão e áster-do-México, sendo muito valorizada pelo seu potencial ornamental e considerada uma planta invasora (Lorenzi e Souza, 2001). Esta espécie, muito comum no Brasil, é popularmente utilizada para o tratamento da icterícia, febre intermitente (malária), esplenomegalia e como hepatoprotetor (Botsaris, 2007). A mistura dos extratos de *B. sulphurea* com de outras espécies é utilizada em formulações dermatológicas pela atividade de inibição proteases (Behr et al., 2006; Cyr, 2002) e em composições para o tratamento de câncer (Cyr, 2006). Além disso, o extrato apolar das folhas desta espécie apresentou significativa atividade citotóxica (Zeid e Motawe, 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a densidade de esporos e a colonização radicular por FMAs das espécies *V. polyanthes*, *S. officinale* e *B. sulphurea*, assim como a atividade microbiana do solo, determinada pela respiração basal do solo (RBS), carbono da biomassa microbiana (CBM) e quociente metabólico microbiano do solo (qCO_2).

MATERIAL E MÉTODOS

Local amostral

As amostras de solo e raízes das plantas assa-peixe, confrei e picão, foram coletadas no Horto Medicinal da Universidade Paranaense – UNIPAR, Campus II, Unidade de Umuarama, PR, com latitude 23°45'59" S, longitude 53°19'30" W e altitude de 442 m, em junho de 2016. No canteiro de cada planta (2 m x 7,5 m) foram coletadas amostras de solo, com 3 repetições, na profundidade de 0-10 cm, cerca de 10 cm distante do caule, resultando em uma amostra composta de 500 g de solo. Também foram coletadas raízes das três espécies cultivadas.

Avaliação da colonização radicular e densidade de esporos por FMAs

As raízes foram coletadas em quatro amostras de cada sistema estudado (assa-peixe, confei e picão) e lavadas em água corrente. Posteriormente, foram cortadas em fragmentos de 2 cm, com auxílio de estilete e mantidas em solução de KOH (10%) a 90 °C por 30 min. O excesso de KOH foi removido e o material vegetal foi imerso em HCl (5% v/v) a 90 °C por 30 min. O HCl foi então removido e as raízes foram coradas com azul de tripano (0,05%) sob banho maria (90 °C; 30 min.) (Phillips e Hayman, 1970). A percentagem de segmentos radiculares colonizados foi medida sob microscópio óptico (100X) em 100 segmentos dispostos em lâminas (Giovannetti e Mosse, 1980). A colonização radicular total por FMA foi transformada pela equação $Col._r = (\text{ArcSen} \sqrt{\text{Col.}(\%)/100}) \cdot (180/\pi)$ para normalização dos dados.

Os esporos foram extraídos do solo de acordo com técnica descrita por Gerdemann e Nicolson (1963). As amostras de solo (10 g) foram suspensas em 1 L de água e agitadas num copo, mantendo em repouso durante 1 min, para que ocorresse a decantação das partículas maiores. Em seguida, o conteúdo foi submetido ao peneiramento úmido nas malhas de 0,710 mm e de 0,053 mm de abertura, sendo esse processo repetido por quatro vezes. O material que permaneceu retido na malha de 0,053 mm foi transferido para tubos de 50 mL Falcon e centrifugado (3000 rpm, 1512 força *G*, por 3 min) e o sobrenadante descartado. O precipitado foi suspenso em 10 mL de sacarose 50% (m/v) e novamente centrifugado (2000 rpm, 658 força *G*, por 2 min); os esporos no sobrenadante foram transferidos para peneira 0,053 mm, lavados para eliminar o excesso de sacarose. Em seguida, foram transferidos para placas de Petri para a contagem sob microscópio estereoscópio (40X).

Determinação do carbono da biomassa microbiana, da respiração basal do solo

A determinação do carbono da biomassa microbiana do solo (CBM) foi feita segundo o método fumigação-extração proposto por Vance et al. (1987) e Tate et al. (1988). Para a fumigação das amostras foram pesados 10 g de amostra de solo e adicionado 1 mL de clorofórmio isento de etanol em todos os frascos destinados à fumigação, os quais foram fechados e armazenados em local isento de luminosidade por 24 horas, com temperatura em torno de 25 a 28 °C. Posterior a isso, retirou-se a tampa dos frascos em capela de exaustão, deixando-se evaporar todo o clorofórmio, como proposto por Brookes et al. (1982) e Witt et al. (2000).

Procedu-se a pesagem para amostras não fumigadas e fumigadas de 10 g das alíquotas de solo. Tanto as amostras fumigadas quanto as não fumigadas de cada tratamento foram repetidas duas vezes, das quais foi utilizada a média. Após isso, realizou-se a extração do C das amostras fumigadas e não fumigadas; adicionou-se nelas 50 mL de solução de sulfato de potássio (K_2SO_4) a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; os tubos foram agitados por 30 min em agitador orbital a 220 rpm; e, após decantação por 30 min, obteve-se o extrato, transferindo o sobrenadante para um filtro de papel acoplado a funil e tubo de 50 mL.

Foram transferidos 8 mL do extrato para um Erlenmeyer de 250 mL para determinação do CBM. Adicionaram-se 2 mL de solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a $0,066 \text{ mol L}^{-1}$, 10 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 95 a 98% e 5 mL de ácido orto-fosfórico (H_3PO_4) 85%; após a solução esfriar, foram 70 mL de água deionizada. Após resfriamento da solução, foram adicionados 4 gotas de difenilamina (C_6H_5)₂NH) 1% e fez-se a titulação sob agitação magnética com a solução de sulfato ferroso amoniacal $[(NH_2)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O]$ $0,033 \text{ mol L}^{-1}$; no fim da titulação a coloração passou de púrpura para verde. Desta forma foi estimado o CBM nos extratos usando-se a fórmula: $CBM = (C_f - C_{nf}) / K_c$, onde C_f e C_{nf} representam o C extraído do solo fumigado e não fumigado e K_c é uma constante usada em todas as amostras, segundo Hungria et al. (2009). O K_c utilizado foi de 0,4, conforme sugerido por Kaschuk et al. (2010).

A respiração basal do solo (RBS) foi determinada de 30 g de solo, que foram acondicionados em um frasco de 30 mL com 10 mL de NaOH 1 mol L^{-1} dentro de frascos de vidro tipo conserva de 500 mL. Os frascos foram fechados hermeticamente e armazenados no escuro em temperatura ambiente. Após oito dias de incubação, os frascos com NaOH foram acrescidos de 2 mL de $BaCl_2$ a 10% e três gotas de fenolftaleína (solução alcoólica a 3%) para titulação com HCl 0,5N conforme Silva et al., (2007).

O quociente metabólico do solo (qCO_2) é o resultado da razão entre a RBS e a unidade de CBM do solo (Hungria et al., 2009).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas por meio do teste de Duncan ($p \leq 0,05$) no programa SPSS v.22.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar a Tabela 1, pode-se afirmar que o pH do solo utilizado no estudo foi de 4,21, o que de acordo com Veloso et al. (1992) é considerado um solo de baixa acidez e dentro dos valores preconizados por Sambatti et al. (2003). Conforme Veloso et al. (1992), são muitas as causas que levam à acidez do solo, como a água que lixivia as bases do complexo de troca deixando íons H^+ em seu lugar; com o abaixamento do pH a valores muito baixos pode ocorrer a decomposição de minerais de argila e ocasionar o aparecimento de Al trocável; a oxidação microbiana do N amoniacal conduz à liberação de íons H^+ ; a raiz troca H^+ por cátions que a planta absorve mantendo o equilíbrio eletrostático e também a matéria orgânica libera íons H^+ no meio, através da dissociação dos seus grupos carboxílicos e fenólicos.

Tabela 1. Característica química do solo amostrado do Horto Medicinal. Valores do pH do solo em $CaCl_2$ (pH), fósforo (P), carbono (C), alumínio (Al^{3+}), acidez potencial ($H^+ + Al^{3+}$), cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), potássio (K^+), soma de bases (SB), capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação por bases (V)*

	pH ($CaCl_2$)	P $mg\ dm^{-3}$	C $g\ dm^{-3}$	Al^{3+}	$H^+ + Al^{3+}$	Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+	SB	CTC	V
				----- $Cmol_c\ dm^{-3}$ -----							%
Solo	4,21	12,27	7,82	0,00	3,19	2,63	1,50	0,25	3,38	5,57	47,67
Ref ¹	3,8-6,6	16-24	0,8-15,9	-	0,6-5,0	0,3-7,2	0,3-3,3	0,1-0,7	-	2,2-12,5	-

*Métodos: P, K extraído por Mehlich-I; Ca, Mg e Al – extraído por KCl 1 mol L^{-1} ; C – Dicromato/colorimétrico; CTC = Capacidade de trocas de cátions; SB = Soma de bases; V = Saturação por bases. Análises realizadas a partir de uma amostra composta do solo no laboratório Solo Fértil de Umuarama – PR.

¹Fonte: (Sambatti et al., 2003).

Os demais parâmetros analisados no solo se encontram dentro dos valores de referência. Sendo assim, de acordo com Sambatti et al. (2003) este solo é considerado adequado em relação a quantidade de nutrientes, podendo ter o pH e o V mais elevados.

Analisando o pH do solo na tabela 2, verificou-se que não teve mudança significativamente entre o cultivo das três plantas medicinais estudadas, mas, como já relatado anteriormente, valores entre 4,02 a 4,29 são considerados de baixa acidez (Veloso et al., 1992; Sambatti et al., 2003).

Quanto densidade de esporos e a colonização radicular pelos FMA, foi possível observar que as plantas confrei e picão, apresentaram valores significativamente maiores, em comparação com a planta assa-peixe. Isso pode ser explicado, pois no momento da coleta foi observado que a planta assa-peixe se encontrava no final do florescimento e de acordo com

Bellei et al. (1992) as raízes são fontes importantes de substrato para os FMA, bem como compostos voláteis (CO_2) exsudados pela raiz estimulam a germinação de esporos. Essa simbiose é benéfica para ambos, porém, pode ser influenciada por vários fatores como componentes do solo, ambiente, manejo e idade da planta. Giller et al. (1997) e Zangaro et al. (2012), afirmam que os parâmetros microbiológicos de qualidade do solo são sensíveis às alterações quanto à presença, tipo e diversidade da vegetação também relatam que fatores bióticos e abióticos podem dificultar a sobrevivência dos FMA.

Tabela 2. pH do solo em CaCl_2 , densidade de esporos (número g^{-1} de solo seco), e colonização radicular (%) por fungos micorrízicos arbusculares, carbono da biomassa microbiana (CBM) (mg C kg^{-1} solo), respiração basal do solo (RBS) ($\text{mg C-CO}_2 \text{ kg solo}^{-1} \text{ hora}^{-1}$) e quociente metabólico ($q\text{CO}_2$) ($\text{mg C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ CBM h}^{-1}$) do solo cultivado com assa-peixe, confrei e picão.

Tratamentos	pH	Esporos	Colonização	CBM	RBS	$q\text{CO}_2$
Assa-peixe	4,20±0,02	0,70±0,09b	42,92±3,33b	147,80±13,48	1,23±0,09ab	8,57±1,40
Confrei	4,29±0,03	1,61±0,14a	54,49±2,18a	201,07±27,90	1,57±0,20a	8,50±2,49
Picão	4,02±0,12	1,51±0,06a	57,57±3,12a	143,06±11,59	0,83±0,08b	5,99±0,99
Significância	0,095	0,001	0,027	0,135	0,024	0,528

Médias (\pm erro padrão, $n = 3$). Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Não houve diferença significativa quanto o CBM entre as plantas cultivadas. Todavia, a maior CBM ocorreu no solo com confrei. O CBM é um importante indicador da qualidade do solo. Segundo Cattelan e Vidor (1990), além de estar relacionado com a quantidade de matéria orgânica, a disponibilidade de C no solo é tida como fonte contribuidora para o aumento da respiração basal do solo (RBS) que, no solo de confrei, mostrou-se significatativo. Para De-Polli e Pimentel (2005), a RBS está relacionada com a produção de CO_2 resultante da atividade respiratória de micro-organismos, protozoários, nematóides, insetos, anelídeos e raízes do solo e é indicador de alterações nas condições ambientais que porventura afetem a atividade microbiana.

Igualmente ao CBM, os valores observados para o quociente metabólico do solo ($q\text{CO}_2$) não se diferenciaram significativamente nos três tipos de plantas cultivadas e analisadas no presente estudo. Entretanto, o solo cultivado com picão apresentou o menor valor observado para a média de $q\text{CO}_2$. Para Anderson e Domsch (1993), o $q\text{CO}_2$ depende dos níveis de RBS e de CBM ($q\text{CO}_2 = \text{RBS}/\text{CBM}$) e expressa a eficiência do uso de substrato pelos micro-organismos do solo. Segundo De-Polli e Guerra (1997), quanto maior o valor do $q\text{CO}_2$, maior é o nível de estresse e perturbação do solo. Baixos índices de $q\text{CO}_2$ sugerem

baixa atividade microbiana no solo. Entretanto, essa análise deve levar em consideração demais aspectos que compõem o cenário em questão, pois, segundo Bardgett e Sagar (1994), altos índices de $q\text{CO}_2$ indicam baixa qualidade do solo, uma vez que representa maior gasto energético para a manutenção da atividade metabólica em comparação com a energia demandada na síntese de biomassa.

O reduzido número de esporos e a menor colonização radicular pelos FMAs é aspecto inibidor do crescimento do assa-peixe, pois, segundo Smith e Read (2008), os FMAs contribuem para o crescimento das plantas, uma vez que ampliam a absorção de nutrientes do solo. Além disso, o solo de assa-peixe apresentou valor intermediário para RBS.

CONCLUSÃO

No cultivo dos três tipos de plantas, verificou-se solo uma alta acidez do solo. A densidade de esporos e a colonização radicular por FMAs foi superior no cultivo das plantas confei e picão, comparado com o cultivo de assa-peixe. A qualidade do solo foi menor no cultivo com assa-peixe.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Paranaense – UNIPAR pelo apoio à pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K.H. The metabolic quotient for CO_2 ($q\text{CO}_2$) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.25, n.3, p.393-395, 1993.
- BAGO, B.; PFEFFER, P.E.; SHACHARHILL, Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. **Plant Physiology**, Bethesda, v.124, p.949-958, 2000.
- BARDGETT, R.D.; SAGGAR, S. Effect of heavy metal contamination on the short-term decomposition of labelled (^{14}C) in pasture soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.26, p.727-733, 1994.

BEHR, S.; DURET, P.; GENDRON, N.; GUAY, J.; LAVALLEE, B. PAGE, B. **Plant extract having matrix metalloprotease inhibiting activity and dermatological uses thereof.** Patente WO 2006053415, PCT Int. Appl, 2006.

BELLEI, M.M.; GARBAYE, J.; GIL, M. **Mycorrhizal succession in young *Eucalyptus viminalis* plantations in Santa Catarina (southern Brazil).** Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. v.54, p.205-213, 1992.

BOTSARIS, A.S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of flora medicinal. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.1, p.3-18, 2007.

BROOKES, P.C.; POWLSON, D.S.; JENKINSON, D.S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. **Soil Biology & Biochemistry**. v.14, p.319-329, 1982.

CAMPO R.J., ARAUJO R.S., MOSTASSO F.L., HUNGRIA M. In-furrow inoculation of soybeans as alternative for fungicides and micronutrients seed treatment and inoculation. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Campinas, v.34, p.1103-1112, 2010.

CATTELAN, A.J.; VIDOR, C. Flutuações da biomassa, atividade e população microbiana do solo, em função de variações ambientais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Campinas, v.14, n.2, p.133-142, 1990.

CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas Medicinais, Condimentares aromáticas**. 2.ed. Jaboticabal, SP: Funep, n.16, p.2, 1994.

CYR, B. **Methods and therapeutic compositions comprising plant extracts for the treatment of cancer.** Patente WO 2006039807, PCT Int. Appl, 2006.

CYR, B. **Plant extracts and composition containing extracellular protease inhibitors.** Patente WO 2002069992, 2002.

DE-POLLI, H.; GUERRA, J.G.M. **Determinação do carbono da biomassa microbiana do solo: método da fumigação-extração.** CNPAB. Seropédica-RJ: Embrapa, 10p., 1997.

DE-POLLI, H.; PIMENTEL, M.S. Indicadores de qualidade do solo. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (eds.) **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília-DF: Embrapa, p.17-28, 2005.

ENGEL, V.L.; PARROTTA, J.A. **Definindo a restauração ecológica: tendências e perspectivas mundiais**. In: KAGEYAMA, P.Y.; OLIVEIRA, R.E.; MORAES, L.F.D.; ENGEL, V.L.; GANDARA, F.B. (org.). **Restauração ecológica de ecossistemas naturais**. Botucatu: FEPAF, p.3-26, 2003.

FOLLI-PEREIRA, M.S.; MEIRA-HADDAD, L.S.; BAZZOLLI, D.M.S.; KASUYA, M.C.M. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. Campinas, v.36, p.1663-1679, 2012.

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**, Cambridge, v.46, p.235-246, 1963.

GILLER, K.E.; BEARE, M.H.; LAVELLE, P.; IZAC, A.M.N.; SWIFT, M.J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v.6, p.3-16, 1997.

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

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R.A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v.42, p.288-296, 2009.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil and Biology Biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 1-13, 2010.

LORENZI, H.; ABREU MATOS, F.J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum, 2.ed, Nova Odessa, 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**, Instituto Plantarum, 3.ed, Nova Odessa, 2001.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA JUNIOR, V.F. Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. **Química Nova**, v.25, p.429-438, 2002.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**, 2.ed., Fortaleza: UFC, 1994.

NOGUEIRA, A.V.; SILVA FILHO, G.N. **Microbiologia**. Florianópolis. Biologia-EaD, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, p.124, 2010.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of British Mycological Society**, Cambridge, v.55, p.157-160, 1970.

SAMBATTI, J.A.; SOUZA JUNIOR, I.G.; COSTA, A.C.S.; TORMENA, C.A. Estimativa da acidez potencial pelo método do pH SMP em solos da formação Caiuá – Noroeste do Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. Campinas, v.27, p.257-264, 2003.

SILVA, E.E.; AZEVEDO, P.H.S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO_2). **Comunicado Técnico 99**, Seropédica-RJ: Embrapa, 4p., 2007.

SMITH, J.L.; PAUL, E.A. **The significance of soil microbial biomass estimations**. In: BOOLAG, J.; STOTZKY, D.G. (Ed.). **Soil Biochemistry**. New York: Marcel Dekker, v.6, p.357-396, 1990.

SMITH, S. E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. New York, 3.ed., 2008.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 5.ed, p.1102, 2004.

SINGH, J.S.; RAGHUBANSHI, A.S.; SINGH, R.S.; SRIVASTAVA, S.C. Microbial biomass acts as source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna. **Nature**, v.338, p.499-500, 1990.

TATE, K.R.; ROSS, D.J.; FELTHAM, C.W. A direct extraction method to estimate soil microbial-c: effects of experimental variables and some different calibration procedures. **Soil Biology & Biochemistry**, v.20, n.3, p.329-335, 1988.

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

VELOSO, C.A.C.; BORGES, A.L.; MUNIZ, A.S.; VEIGAS, I.A.J.M. Efeitos de diferentes materiais no pH do solo. **Scientia Agricola**, v.49, p.123-128, 1992.

WITT, C.; GAUNT, J.L.; GALICIA, C.C.; OTTOW, J.C.G.; NEUE, H.U. A rapid chloroform-fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon and nitrogen in flooded rice soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 30, n.5, p. 510-519, 2000.

ZANGARO, W; ALVES, R.A.; LESCANO, L.E.; ANSANELO, A.P. Investment in fine roots and arbuscular mycorrhizal fungi decrease during succession in three Brazilian ecosystems. **Biotropica**, Lawrence, v. 44, p.141-150, 2012.

ZEID, A.H.S.A.; MOTAWA, H.M. Cytotoxic lipoidal constituents of *Cosmos sulphureus* (Cav.) leaves. **Bulletin of the Faculty of Pharmacy**, v. 40, p.189-199, 2002.