

Antonio Lourenço Pinto

INFLUÊNCIA DE PLANTAS DE COBERTURA E DE BIOCARVÃO NA
ESTRUTUA DE COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO EM
ÁREAS DE MINERAÇÃO DE CARVÃO EM RECUPERAÇÃO.

Dissertação submetida ao
Programa de Pós-graduação em
Recursos Genéticos Vegetais da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau
de Mestre em Ciências Vegetais.
Orientador:
Prof. Dr. Cláudio Roberto
Fonseca Sousa Soares.

Florianópolis

2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Pinto, Antonio Lourenço
INFLUÊNCIA DE PLANTAS DE COBERTURA E DE
BIOCARVÃO NA ESTRUTUA DE COMUNIDADES MICROBIANAS DO
SOLO EM ÁREAS DE MINERAÇÃO DE CARVÃO EM
RECUPERAÇÃO. / Antonio Lourenço Pinto ; orientador,
Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares, 2018.
133 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias,
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos
Vegetais, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Recursos
genéticos vegetais. 3. Biocarvão. 4. Plantas de
cobertura do solo. 5. Comunidades microbianas do
solo. I. Soares, Cláudio Roberto Fonseca Sousa .
II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos
Vegetais. III. Título.

Antonio Lourenço Pinto

INFLUÊNCIA DE PLANTAS DE COBERTURA E DE BIOCARVÃO NA
ESTRUTURA DE COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO EM
ÁREAS DE MINERAÇÃO DE CARVÃO EM RECUPERAÇÃO.

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciências. Área de concentração recursos genéticos vegetais “subárea de Manejo Sustentável de plantas” e, aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais CCA-UFSC.

Florianópolis, 29 de maio de 2018.

Prof. Paulo Emílio Lovato, Dr.

Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares, Dr.

Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Paulo Emílio Lovato, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina (interno)

Prof. Admir José Giachini, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina (externo)

Prof. Rubens Tadeu Delgado Ramos, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina (externo)

Ao meu pai Moises Pinto Ribeiro
(*in memoriam*) pelo ardente desejo
em favor da continuidade dos meus
estudos ainda na infância.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e de ser.

Aos meus pais, Moises (*in memoriam*) e Vergínia, pela materialização da vida, a educação, o empenho em manter-me vivo e pelo incentivo aos estudos.

Ao meu avô Antonio Xavier de Almeida pela educação a mim concedida e pelos ideais heroicos assentados nos princípios da educação comunitária.

Aos meus irmãos pelo apoio, incentivo e ânimo.

À minha esposa Vilma e a minha filha Liliane pelo apoio desde o início do supletivo e a convivência e, aos demais parentes e amigos (não menos importantes).

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal Santa Catarina pela oportunidade de realização do curso de Pós-Graduação.

As instituições de fomento CAPES-CNPq, pela bolsa concedida e o financiamento do projeto.

Ao meu orientador Dr. Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares pela orientação, solicitude, prestatividade, empenho e amizade desde a minha graduação.

À Carbonífera Metropolitana (na pessoa do Sr. Norberto Burigo) pela imensurável solicitude e empenho na concessão de área, solo e sementes para o experimento.

À Edilane Rocha Nicoleite do SATC/SC pela presteza na concessão de sementes para realização do experimento.

A todos os colegas de laboratório (em especial ao Edenilson, Natália, Andressa, Emanuela, Shantau, Paola, Luiz Fernando, Fernando, Douglas, Elizandra e Anabel) pela ajuda e amizade.

Ao Lander pelo companheirismo e ajuda desde a graduação, em especial pelas trocas de opiniões e informações sobre a importância dos bons projetos dentro do laboratório e no dia a dia.

Ao Professor Rubens pela concessão e orientação operacional do IRGA e demais dúvidas sanadas, além do empenho e ajuda na materialização deste trabalho.

Ao prof. Rafael Dutra de Armas pelo ensino operacional de técnicas e práticas em biologia molecular imprescindíveis na minha jornada acadêmica, além da amizade e companheirismo sem igual.

Ao Laboratório de Efluentes LABEFLU-UFSC, na pessoa da prof. Rejane Costa, prof. Rodrigo Mohedano e o Nelson pelo valioso empenho na concessão do software gel compar. para as análises de DGGE (mesmo no recesso letivo).

A todas as pessoas que direta ou indiretamente de alguma forma doaram um pouco si contribuindo para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível.

A todos os meus sinceros agradecimentos!

Uma pessoa humilde é aquela que sabe que não sabe tudo; aquela que sabe que muito tem que aprender; aquela que sabe que não é a única pessoa que sabe; aquela que sabe que outra pessoa sabe o que ela não sabe; aquela que sabe que ela e outra pessoa juntas saberão mais; aquela que sabe que ela e uma outra pessoa nunca saberão tudo aquilo que poderá ser sabido, gente grande de verdade, sabe que é muito pequena.

(O autor).

RESUMO

A exploração do carvão mineral em SC resultou em mudanças ambientais especialmente nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo, cujos processos de reconstrução topográfica do solo seguido de implantação de projetos de revegetação vêm sendo uma alternativa para recuperação destas áreas. Dentre as espécies de plantas utilizadas nos processos iniciais de revegetação encontram-se as herbáceas gramíneas braquiária (*Brachiaria brizantha* A. Rich. cv Marandu) e milheto (*Pennisetum americanum* L.) e a leguminosa calopogônio (*Calopogonium mucunoides*). Entretanto, não é conhecido o comportamento destas plantas sobre as comunidades microbianas dos solos usados para o remodelamento topográfico das áreas. O biocarvão tem-se mostrado como uma alternativa de substrato viável para o condicionamento e a fertilidade de diversos tipos de solos, com reflexos positivos no aumento da biomassa vegetal e nas comunidades microbianas do solo. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência das plantas de cobertura e do biocarvão sobre as comunidades microbianas do solo de áreas de mineração de carvão em recuperação. O experimento seguiu um delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 5x2, com quatro repetições. Foram testados quatro tratamentos contendo plantas de cobertura: braquiária (Bra); calopogônio (Cal); milheto (Mil) e o consórcio destas (Mix), além de um tratamento controle (Con). Todos os tratamentos foram avaliados na presença 1% de biocarvão de cama de aviário (+B) e ausência deste substrato (-B) no solo. Ao final de 60 dias após a semeadura avaliou-se a massa seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR), bem como os valores acumulados de N e P da MSPA das plantas de cobertura, além dos parâmetros de respiração basal (RB) e do pH do solo. Avaliou-se também a estrutura das comunidades bacterianas e fúngicas por PCR/DGGE a partir DNA extraído de solo. O biocarvão promoveu o aumento da MSPA, da quantidade acumulada de N e P em todos os tratamentos com plantas de cobertura, e da MSR no tratamento Cal. Os aumentos foram: 44, 200,85 e 220,% para Bra, Cal, Mil e Mix na MSPA; 62, 302, 123, 241% para Bra, Cal, Mil e Mix no acúmulo N; 36, 91, 18, e 77% para Bra, Cal, Mil e Mix no acúmulo P. Além de 31,% para Cal na MSR. Houve um incremento na respiração basal entre o 20° e 35° dia, principalmente nos tratamentos Mil Mix e Bra. A aplicação do biocarvão aumentou o pH do solo de 5,7 para 6,2. A estrutura das comunidades microbianas do solo foi mais influenciada pela presença de biocarvão no solo do que pela presença de plantas de cobertura, sendo verificado incremento no número de bandas das comunidades de bactérias e fungos na presença de biocarvão. Desta forma, o biocarvão

associado com as plantas de cobertura pode aumentar a diversidade da comunidade microbiana e acelerar a recuperação de solos degradados pela mineração de carvão.

Palavras-chave: revegetação; microrganismos do solo; monitoramento ambiental; PCR-DGGE.

ABSTRACT

The mineral coal exploration in SC State resulted in environmental changes in the chemical, physical and biological attributes of the soil, whose processes of topographic reconstruction of the soil followed by implantation of revegetation projects have been an alternative for recovery of these areas. Among the plant species used in the initial revegetation processes are the brachiaria grasses (*Brachiaria brizantha* A. Rich. Cv Marandu), millet (*Pennisetum americanum* L.) and the calopogonium legume (*Calopogonium mucunoides*). However, the behavior of these plants on the soil microbial communities used for the topographic remodeling of these areas is unknown. The biochar has been shown to be a viable substrate alternative for the conditioning and fertility of different types of soils, with positive effects on the increase of plant biomass and soil microbial communities. The objective of this work was to evaluate the influence of cover crops and biochar on the soil microbial communities of recovering coal mining areas. The experiment used a randomized complete block design in a 5x2 factorial scheme, with four replications. Four treatments containing cover plants were tested: Brachiaria (Bra); calopogonium (Cal); millet (Mil) and the consortium of these (Mix), in addition to a control treatment (Con). All treatments were evaluated in the presence of 1% of avian bed biochar (+ B) and absence of this substrate (-B) in the soil. At the end of 60 days after sowing, dry shoot mass (MSPA) and root (MSR) were evaluated, as well as accumulated values of N and P of MSPA of cover plants, as well as basal respiration parameters (RB) and soil pH. The bacterial and fungal communities structure were also evaluated by PCR / DGGE from soil extracted DNA. Biochar promoted MSPA increasing, the accumulated amount of N and P in all the treatments with cover plants and the MSR in the Cal treatment. The increases were: 44, 200, 85, and 220% for Bra, Cal, Mil and Mix in MSPA; 62, 302, 123, 241% for Bra, Cal, Mil and Mix in the N accumulation; 36, 91, 18 and 77% for Bra, Cal, Mil and Mix in the accumulated P. Besides 31% for Cal in MSR. There was a basal respiration increase between the 20th and 35th day, mainly in the treatments Mil, Mix and Bra. The application of biochar increased soil pH from 5.7 to 6.2. The presence of biochar at soil has influenced the structure of the soil microbial communities more than cover plants presence, being marked by the increase in the number of bands of bacteria and fungi communities in the presence of biochar. In this way, the biochar associated with cover crops can increase the diversity of the microbial community and accelerate the recovery of degraded soils by coal mining.

Keywords: revegetation; soil microorganisms; environmental monitoring; PCR-DGGE.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Diagrama dos produtos de mineração do carvão.....27
- Figura 2** - Região Carbonífera de Criciúma.....51
- Figura 3** - Imagem do local de coleta do solo.....52
- Figura 4** - Esquema do delineamento experimental.....54
- Figura 5** - Gráficos do resultado das análises da matéria seca da parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) e das quantidades acumuladas de nitrogênio (N) e fósforo (P) nas plantas de cobertura do solo.....62
- Figura 6** – Gráfico do resultado das análises de pH do solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e controle na ausência de biocarvão (-B) e na presença de biocarvão (+B) no final do experimento.....63
- Figura 7** – Gráfico do resultado da respiração basal (RB) do solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e na ausência biocarvão (-B) e na presença de biocarvão (+B) no decorrer do experimento.....64
- Figura 8** - Agrupamento hierárquico obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de bactérias totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência de biocarvão (-B).....65
- Figura 9** - Resultado da análise de MDS obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de bactérias totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência de biocarvão (- B).....66
- Figura 10** - Agrupamento hierárquico obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de bactérias totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na presença de biocarvão (+B).....67
- Figura 11** - Resultado da análise de MDS obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de bactérias totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na presença de biocarvão (+B).....68

Figura 12 - Agrupamento hierárquico obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de bactérias totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência e na presença de biocarvão (-B e +B respectivamente).....70

Figura 13 - Resultado da análise de MDS obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de bactérias totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência e na presença de biocarvão (- B e +B respectivamente).....71

Figura 14 - Agrupamento hierárquico obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de fungos totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência de biocarvão (-B).....73

Figura 15 - Resultado da análise de MDS obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de fungos totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência de biocarvão (- B).....74

Figura 16 - Agrupamento hierárquico obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de fungos totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na presença de biocarvão (+B).....75

Figura 17 - Resultado da análise de MDS obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de fungos totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na presença de biocarvão (+B).....76

Figura 18 - Agrupamento hierárquico obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de fungos totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência e na presença de biocarvão (-B e +B respectivamente).....78

Figura 19 - Resultado da análise de MDS obtido a partir de PCR-DGGE da estrutura das comunidades de fungos totais do solo dentro dos tratamentos plantas e controle na ausência e na presença de biocarvão (-B e +B respectivamente).....79

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Atributos químicos do solo coletado em área de mineração de carvão em recuperação.....53
- Tabela 2** - Caracterização físico-química do biocarvão e da matéria prima (cama de aviário) da qual o mesmo foi produzido.....55
- Tabela 3** - Resultado da análise de ANOSIM (teste de similaridade por *Pairwise*) baseado nos perfis de bandas da região do gene 16S rRNA de bactérias totais da estrutura das comunidades bacterianas de solo de área de mineração de carvão em recuperação na ausência de biocarvão (-B).....66
- Tabela 4** - Resultado da análise de ANOSIM (teste de similaridade por *Pairwise*) baseado nos perfis de bandas da região do gene 16S rRNA de bactérias totais da estrutura das comunidades bacterianas de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de biocarvão (+B).....69
- Tabela 5** - Resultado da análise de ANOSIM (teste de similaridade por *Pairwise*) baseado nos perfis de bandas da região do gene 16S rRNA de bactérias totais da estrutura das comunidades bacterianas de solo de área de mineração de carvão em recuperação na ausência e na presença de biocarvão (-B e +B respectivamente).....72
- Tabela 6** - Resultado da análise de ANOSIM (teste de similaridade por *Pairwise*) baseado nos perfis de bandas da região do gene ITS rRNA de fungos totais da estrutura das comunidades fúngicas de solo de área de mineração de carvão em recuperação na ausência de biocarvão (-B).....74
- Tabela 7** - Resultado da análise de ANOSIM (teste de similaridade por *Pairwise*) baseado nos perfis de bandas da região do gene ITS rRNA de fungos totais da estrutura das comunidades fúngicas de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de biocarvão (+B).....77
- Tabela 8** - Resultado da análise de ANOSIM (teste de similaridade por *Pairwise*) baseado nos perfis de bandas da região do gene ITS rRNA de fungos totais da estrutura das comunidades fúngicas de solo de área de mineração de carvão em recuperação na ausência e na presença de biocarvão (-B e +B respectivamente).....80

Tabela 9 - Números de bandas dos tratamentos obtidos a partir da análise de DGGE da estrutura das comunidades bacterianas e fúngicas de amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na ausência e presença de biocarvão (-B e +B respectivamente).....80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIE – Agencia Internacional de Energia

ANEEL – Agência Nacional de energia Elétrica

ANOSIM – Análise de dados de similaridade

ANOVA – Análise variância

+B – presença de biocarvão

-B – ausência de biocarvão

BFN - bactérias fixadoras de nitrogênio

Bra - Braquiária

C - Carbono

Cal - Calopogônio

CETEM – Centro de Tecnologia Mineral

CRPM – Companhia de Recursos de Pesquisas Minerais

CSN - Companhia Siderúrgica Nacional

DAM – Drenagem Ácida de Mina

DGGE– *Denaturing gradient gel electrophoresis*

DNA– Ácido Desoxirribonucleico

DNPM– Departamento Nacional de Produção Mineral

EDTA– *Ethylenediamine tetraacetic acid*

C – Citosina

FBN - fixação biológica de nitrogênio

FMA - Fungos Micorrízicos Arbusculares

G – Guanina

GTA – Grupo Técnico de Assessoramento

K - Potássio

MA - micorrizas arbusculares

MCEIASB – Mapa de Conflitos Envolvendo Justiça Ambiental e Saúde no Brasil

MS – matéria seca

MSPA – massa seca parte aérea

MSR – massa seca radicular

Mix – Consórcio

Mil – Milheto

N - Nitrogênio

P - Fósforo

PCR– Reação em cadeia da polimerase

pH– Potencial Hidrogeniônico

RB- respiração basal do solo

RNA– Ácido Ribonucleico

rRNA - DNA ribossomal

SIECESC - Sindicato da Indústria de Extração de Carvão de Santa Catarina

UFSC– Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	23
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1.	CARVÃO MINERAL.....	25
2.1.1.	Origem composição e classificação.....	25
2.1.2.	Beneficiamento do carvão mineral.....	26
2.1.3.	Produção características e deposição do resíduo.....	27
2.1.4.	Drenagem ácida de mina.....	28
2.1.5.	Exploração de combustíveis fósseis e a sustentabilidade ambiental.....	29
2.1.6.	Mineração de carvão em Santa Catarina e o meio ambiente.....	30
2.1.7.	Mitigação e recuperação ambiental na mineração catarinense...	31
2.2.	PLANTAS DE COBERTURA DE SOLO NA RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS	33
2.3.	BIOCARVÃO.....	37
2.3.1.	Biocarvão origem e uso.....	37
2.3.2.	Composição, características, estrutura e propriedades do biocarvão.....	38
2.3.3.	Biocarvão a interação com o solo e o papel condicionador.....	39
2.3.4.	Biocarvão e o crescimento vegetal.....	41
2.4.	IMPORTÂNCIA DOS MICRORGANISMOS DO SOLO PARA A MANUTENÇÃO DOS ECOSSISTEMAS.....	43
2.5.	TÉCNICAS PARA DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS NO MEIO AMBIENTE.....	45
3.	HIPÓTESES.....	49
4.	OBJETIVOS.....	49
4.1.	OBJETIVO GERAL.....	49
4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
5.1.	LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDOS: BACIA CARBONÍFERA DE SANTA CATARINA.....	51
5.2.	COLETA DO SOLO.....	51
5.3.	IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	52
5.4.	COLETA DE MATERIAL E DADOS PARA ANÁLISES.....	56
5.5.	CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA DAS COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO.....	57
5.5.1.	Extração e purificação do DNA total.....	57
5.5.2.	PCR-DGGE.....	58

5.6.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	59
6.	RESULTADOS.....	61
6.1.	MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) E DA RAIZ (MSR), E QUANTIDADES ACUMULADAS DE NITROGÊNIO (N) E FÓSFORO P).....	61
6.2.	ANÁLISE DO pH E DA RESPIRAÇÃO BASAL (RB) DO SOLO.....	63
6.3.	ESTRUTURA DAS COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO DE ÁREA DE MINERAÇÃO EM RECUPERAÇÃO.....	64
6.3.1	Estrutura das comunidades bacterianas na presença de plantas de cobertura de solo e ausência de biocarvão (-B).....	64
6.3.2.	Estrutura das comunidades bacterianas na presença de plantas de cobertura de solo e presença de biocarvão (+ B).....	67
6.3.3.	Estrutura das comunidades bacterianas na presença de plantas de cobertura de solo e ausência e presença de biocarvão (-B e + B) respectivamente.....	69
6.3.4.	Estrutura das comunidades fúngicas na presença de plantas de cobertura de solo e ausência de biocarvão (-B).....	72
6.3.5.	Estrutura das comunidades fúngicas na presença de plantas de cobertura de solo e presença de biocarvão (+B).....	75
6.3.6.	Estrutura das comunidades fúngicas na presença de plantas de cobertura de solo e ausência e presença de biocarvão (-B e +B) respectivamente.....	77
7.	DISCUSSÃO.....	81
7.1.	EFEITO DO BIOCÁRVÃO SOBRE O CRESCIMENTO VEGETAL E ATRIBUTOS DO SOLO.....	81
7.2.	BIOCÁRVÃO E PLANTAS DE COBERTURAS NA ESTRUTURA DAS COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO.....	90
8.	CONCLUSÕES.....	99
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	101
10.	REFERÊNCIAS.....	103

1. INTRODUÇÃO

O carvão mineral é um combustível de origem fóssil sólido formado há milhões de anos a partir da decomposição da matéria orgânica de vegetais depositados em bacias sedimentares, sob determinadas condições de temperatura e pressão. O principal uso do carvão mineral mundial é atribuído à produção de energia elétrica por meio de usinas termoeletricas, sendo também utilizado na produção do aço, além do emprego na geração de energia térmica, necessária aos processos de produção, como secagem de produtos e fabricação de vidros. É um dos combustíveis fósseis mais abundantes na natureza, e apresenta reservas equivalentes a 27 % da matriz energética mundial, perdendo apenas para o petróleo com 33 % de participação (BRASIL, 2014).

O carvão mineral ocupa o primeiro lugar entre os combustíveis fósseis na perspectiva de vida útil (BORBA, 2001), sendo o sedimento fóssil mais abundante na natureza e em longo prazo, a mais importante reserva energética mundial (BIAN *et al.*, 2010; ZHENGFU *et al.*, 2010). No Brasil, o carvão mineral segue a tendência internacional de consumo, e constitui a maior fonte de energia não renovável do país (CETEM, 2013). As principais reservas deste recurso estão situadas na região Sul, sendo suficientes para mais 500 anos de extrativismo (BRASIL, 2011).

Contudo, apesar da contribuição na geração de energia em todo o mundo, as alterações provocadas no ambiente pela mineração são elevadas, e os seus impactos ambientais têm se tornado importante desafio (BIAN *et al.*, 2010; ZHENGFU *et al.*, 2010; BRASIL, 2011; GTA, 2012). Esses impactos ocorrem nas diversas fases da cadeia produtiva, que são: prospecção da jazida, mineração, drenagem ácida de mina, disposição do resíduo e queima. Estes repercutindo sobre a qualidade do ar, solo, fauna, flora e águas superficiais e subterrâneas (CETEM, 2001; BARRETO *et al.*, 2001).

Um dos principais impactos gerados pela exploração carbonífera no local de extração e entorno da lavra, é a severa deposição a céu aberto (comum em épocas passadas) de rejeitos de beneficiamento de carvão mineral, em áreas de mineração que foram posteriormente abandonadas. Destacam-se os rejeitos grossos que costumam ser alocados em áreas planas, e, algumas vezes, em cavas de mineração desativadas, a céu aberto (CASTILHOS & FERNANDES, 2011).

Os resíduos são ricos em remanescentes de sulfeto de ferro (pirita) expostos à superfície, que em contato com o oxigênio, água e ação de bactérias oxidam, formando o processo de acidificação de drenagens e a dissolução de metais pesados, tais como chumbo, manganês e cádmio (LOPES *et al.*, 2004), o que pode ocorrer em minas abandonadas ou em operação (FUNGARO & IZIDORO, 2006).

Este processo é capaz de inibir severamente o estabelecimento e crescimento vegetal, contaminar águas superficiais e subterrâneas, elevar os custos do tratamento de efluentes e danificar estruturas de metal e concreto (FRIPP *et al.*, 2000). Por esta razão, a recuperação e manutenção da qualidade destas áreas encontram-se no centro das atenções ambientais, e a necessidade de desenvolver sistemas que controlem essa problemática é cada vez mais necessária (BORBA, 2001).

Entre os principais mecanismos funcionais de recuperação de áreas degradadas destacam-se os papéis ecossistêmicos das plantas de cobertura do solo, na promoção de matéria orgânica e fertilidade local, e na amenização do efeito dos eventos climáticos (estiagens, cheias, amplitude térmica...), e dos microrganismos edáficos (de vidas livres e simbioses), na participação do ciclo biogeoquímico e associações mutualísticas, imprescindíveis, para melhorar a fertilidade do solo e estimular a colonização e a estabilização de espécies vegetais nestas áreas.

Contudo, em área degradada pela mineração de carvão ocorre a inversão das camadas do solo (CITADINI-ZANETTE, 1999; LOPES; SANTO & GALATO, 2009), fazendo com que a camada que apresenta maior fertilidade e atividade microbiana do terreno, fique soterrada por material contendo estéril, dificultando o estabelecimento da vegetação espontânea (NICOLEITE *et al.*, 2013). Por outro lado, o biocarvão adicionado ao solo favorece o crescimento vegetal, ajuda manter a umidade, aumenta o pH, e promove a instalação, a colonização e a atividade das comunidades microbianas (LEHMANN & JOSEPH, 2009).

Dessa forma, o biocarvão também pode concorrer para o restabelecimento das interações ecológicas iniciais e, o aumento da resiliência das espécies vegetais reintroduzidas. Estratégias de recuperação florestal de áreas degradadas na Bacia Carbonífera Catarinense estão sendo empregadas. Para tal, espaços ocupados por rejeitos de mineração vêm sendo substituídos por uma camada de solo de empréstimo, sobre o qual, na presença de plantas de coberturas de solo *Brachiaria* spp., *Calopogonium* sp. e *Pennisetum* spp. dentre outras, mudas de espécies vegetais nativas em simbiose microrrgânica, estão sendo implantadas.

Assim, a promoção do crescimento orgânico e funcional das plantas de cobertura empregadas nesse processo, junto ao o incremento de um substrato que não afetem negativamente as comunidades microbianas do solo, poderá ser uma alternativa para amenizar os efeitos, antagonicos ao surgimento e estabilização de espécies pioneiras, e aumentar a efetividade das espécies vegetais transplantadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CARVÃO MINERAL

2.1.1. Origem composição e classificação

O carvão mineral de origem fóssil foi uma das primeiras fontes de energia utilizadas em larga escala pelo homem e a base da primeira revolução industrial. Este sedimento é formado por carbono, oxigênio, nitrogênio, hidrogênio, enxofre, cinzas, fósforo e traços de outros elementos, e normalmente está associado a rochas como arenito, siltito, folhetos e diamictitos, e minerais como a pirita (FILHO, 2009; ANEEL-Atlas, 2010).

O carvão mineral constitui uma rocha sedimentar combustível, formada a partir do acúmulo e decomposição de matéria orgânica de vegetais que sofreram soterramento há milhões de anos e se compactaram em bacias pouco profundas e, pode ser subdividido conforme a sua característica, sendo que esta por sua vez, depende de fatores como a natureza da matéria orgânica/vegetal que o formou, do clima e da localização geográfica, à época da formação, e evolução geológica da área (BRANCO, 2016).

A classificação ocorre conforme a sua qualidade em: turfa, de baixo conteúdo carbonífero, que constitui um dos primeiros estágios do carvão com teor de carbono na ordem de 45 %; linhito, que apresenta teor de carbono variando entre 60 e 75 %; carvão betuminoso (hulha), que contém teor entre 75 e 85 % de carbono e antracito, o mais puro dos carvões que apresenta um teor de carbono superior a 90 %. (CANO, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2013).

A ANEEL-Atlas, (2010) prevê que, 53% das reservas mundiais do carvão mineral são constituídas por carvão com alto teor de carbono (hulha) e 47% com baixo teor de carbono. A produção e o consumo mundial concentram-se nas categorias intermediárias, ou seja, nos carvões tipo betuminoso/sub-betuminoso e linhito. O primeiro é comercializado no mercado internacional, e o segundo utilizado na geração térmica local.

Ainda segundo a ANEEL, as reservas brasileiras são compostas por carvão dos tipos linhito e sub-betuminoso ocupando o 10º lugar no ranking mundial destas classes, sendo que as maiores jazidas situam-se nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e, a maior aplicação desta fonte de energia, ocorre nas usinas termoeletricas para a produção de energia elétrica. No entanto, há casos em que a pobreza energética do minério não admite beneficiamento nem transporte, em função do elevado teor de impurezas.

Isto faz com que sua utilização seja feita sem beneficiamento e nas proximidades do local de mineração, boca da mina (ANEEL-Atlas, 2010).

2.1.2. Beneficiamento do carvão mineral

Na região sul de Santa Catarina, o carvão é obtido a partir de minas a céu aberto, subterrâneas e também em instalações de beneficiamento de antigos depósitos de rejeitos que se encontram na região. Na maioria dos casos, os constituintes orgânicos não se encontram suficientemente concentrados para sua utilização direta, necessitando de algum tipo de beneficiamento, que resulte no aumento da concentração de matéria orgânica (FILHO, 2009).

Entretanto, devido a aspectos econômicos e ambientais ocasionados pela rejeição dos rejeitos, a bacia que ocupa 10% da superfície do estado catarinense, não possui mais condições de fornecer carvão metalúrgico ao setor industrial, tendo as usinas termoelétricas como consumidoras exclusivas no mercado nacional (CASTILHOS & FERNANDES, 2011).

No beneficiamento, que consiste na retirada de componentes indesejáveis agregado ao mineral orgânico (cinzas, enxofre e metais...) a partir da lavagem do carvão bruto (CORRÊA, 2008; DÁVILA, 2013), há a separação de duas fases distintas: carvão (menos densa) e rejeito (mais densa), obtidos pela diferença densimétrica entre elas, geralmente em meio aquoso, para facilitar a estratificação das camadas dispostas, segundo sua maior ou menor densidade, separando-se tais produtos na parte final do equipamento de concentração.

O que se busca com esse processamento é o aproveitamento máximo da matéria-prima carbonosa, visando à maximização dos resultados (FEIL & NETO, 2008), uma vez que, o carvão mineral retirado da jazida, somente agrega valor comercial após a etapa de beneficiamento, quando este, atinge as características físico-químicas exigidas pelo mercado, restando um rejeito que deve ser disposto adequadamente (SCHNEIDER, 2006). Figura 1.

Figura 1 - Diagrama dos produtos de mineração do carvão



Fonte: SCHNEIDER, 2006.

2.1.3. Produção, características e deposição do resíduo

A principal restrição à utilização do carvão como fonte de energia é o forte impacto sócio-ambiental provocado em todas as etapas do processo de produção (ANEEL-Atlas, 2010). Segundo SILVA, VIANA & CAVALCANTE, (2011), há dois tipos principais de resíduos sólidos oriundos da mineração: os estéreis e os rejeitos.

Os estéreis ou inertes são matérias provenientes de escavados, gerados pelas atividades de extração no decapeamento superficial da lavra ou mina, não possuindo valor econômico, e geralmente disposto de forma inadequada em pilhas, em caráter temporário ou definitivo. Os rejeitos que são resíduos resultantes dos processos de beneficiamento a que são submetidas às substâncias minerais, são geralmente dispostos em: bacias de decantação, módulos de rejeito ou retornados ao interior da mina, seja de mineração aberta ou subterrânea.

No entanto, em razão da elevada concentração de pirita, FeS_2 , no material lavado, os processos de beneficiamento descartam cerca de 60-70% do material minerado (KOLLING, 2014). Sendo a geração de grandes quantidades de rejeito piritoso, que foram e ainda são descartados a céu

aberto nos pátios industriais (FUNGARO & IZIDORO, 2006), um dos principais problemas enfrentados pelo setor.

Visto que, segundo o CETEM, (2013), a mineração de carvão mineral e os rejeitos a céu aberto, no Sul do Brasil, têm alterado profundamente as características bióticas (efeitos da atividade dos seres vivos no ecossistema) e abióticas (influências que os seres vivos recebem, tais como luz, temperatura, ar...) dos ecossistemas naturais, e principalmente no que se refere à qualidade do solo, das águas superficiais e da biota (conjunto de seres vivos de um ecossistema) a eles associada (STRECK *et al.*, 2001).

2.1.4 Drenagem Ácida de Mina e a poluição

Na presença de água e por conjunção de ações bióticas (bactérias e *archaea* que sobrevivem em ambientes ácidos) e abióticas (oxigênio atmosférico), ocorrem reações de oxidação de minerais sulfetados, encontrados em resíduos de mineração (rejeito ou estéril), produzindo uma solução aquosa ácida, a drenagem ácida de mina (DAM) (COLMER & HINKLE, 1947; BAKER & BANFIELD 2003; KOLLING, 2014).

De acordo com Nyquist e Greger (2009), a formação da DAM a partir de rejeitos e efluentes da mineração é um grande problema ambiental. Esta solução, que lixivia os minerais presentes no resíduo, produzindo um percolado rico em íons de metais dissolvidos, além de ácido sulfúrico que contaminam o solo, tem caráter nocivo e pode afetar os mananciais e atingir os depósitos de água subterrânea, comprometendo o meio ambiente e afetando a saúde e as atividades econômicas das populações próximas (CETEM, 2013).

Caso este percolado alcance corpos hídricos ou bacias hidrográficas locais ou regionais, pode contaminá-los e torná-los impróprios para o uso por um longo tempo, mesmo depois de cessadas as atividades de mineração (TRINDADE & SOARES, 2013).

Na bacia carbonífera catarinense, entre as medidas empregadas para diminuir os prejuízos ao meio ambiente e a população estão os métodos: para evitar a formação de DAM, para isto, deve-se evitar a exposição de rejeitos ou estéreis às condições oxidantes de intemperismo e, presença de água (MENDONÇA, SOARES & HUYSSSTEEN, 2001; SOUZA, SOARES & RODRIGUES, 2001; TRINDADE & SOARES, 2013), e os que atuam como controladores da migração dos elementos responsáveis pelas alterações ambientais, entre eles estão os métodos, preventivos, de contenção e remediação (SCHNEIDER, 2006).

Além, de medidas para a recuperação vegetal de áreas criticamente impactadas como as do entorno de minas abandonadas e locais de descartes de resíduos (SPIAZZI, 2011), e matas ciliares (NICOLEITE *et al.*, 2013), que estão diretamente expostas, a DAM ou há materiais sulfetados (pirita).

2.1.5. Exploração de combustíveis fósseis e a sustentabilidade ambiental

No Brasil, a consciência de proteção ao meio ambiente por meio da mineração surgiu na década de 70, a partir da percepção de que o bem-estar social, fruto do desenvolvimento econômico, estava relacionado, em geral, a impactos não desejados sobre os vários ecossistemas (BRUM, 2000). Desde então, os agentes responsáveis por tais impactos começaram a serem discriminados e tratados de forma especial, quando não condenados por um segmento pensante e emergente dessa sociedade, denominado ambientalista (MENDES & VIEIRA, 2010).

Os efeitos destes impactos, deletérios ao Meio Ambiente e ao Organismo Humano, resultaram no envolvimento de segmentos da sociedade como cientistas, políticos e empresários do setor industrial, sobre a necessidade de uma política global de gestão ambiental que promovesse a sustentabilidade dos ecossistemas, como única solução (BRUM, 2000).

Diante disso, em desfavor a estabilidade e a expansão do setor, à Agência Internacional de Energia-AIE, (2011), propôs aos governos nacionais a necessidade de acabar com a oferta de subsídios-incentivos para indústrias do carvão e do petróleo. Uma vez que, a produção e a queima dos mesmos estariam levando a um aquecimento global de 3,5°C. até o fim do século XXI, e os subsídios estimulavam o consumo excessivo de combustíveis fósseis (AIE, 2011), prejudicando também os investimentos em novas fontes alternativas de energia (ÁVILA, 2011; ÁVILA, 2013). Além disso, são amplamente considerados como economicamente ineficiente e ambientalmente prejudicial (HENOK, 2017).

Apesar do crescimento de outras fontes de energia com menor impacto ambiental e baixas emissões de CO₂, os combustíveis fósseis continuam a dominar a matriz energética global, apoiado pela disponibilização de subsídios que, em 2011 devido à alta de preços do petróleo, aumentou quase 30% a mais em relação a 2010, e seis vezes mais que os subsídios às fontes de energia renováveis (AIE, 2012; ÁVILA, 2013).

De fato, a reforma e a eliminação progressiva desses tipos de subsídios passaram a ser objeto de debate de coalizões econômicas e regionais como do G-20, que se comprometeu a eliminar os subsídios ineficazes de

combustíveis fósseis (HENOK, 2017), a Conferência sobre Desenvolvimento Sustentável (Rio+20), o Fórum da Cooperação Econômica Ásia-Pacífico (APEC) (MERRIL, 2015).

Ainda assim, a reforma ou a cessação dos subsídios a esses combustíveis não ocorreram, implicando no aumento da degradação e poluição ambiental, e na perda de eficiência para a economia e a sociedade, uma vez que, ao reduzirem os custos artificialmente favorecem o uso e a alocação ineficiente dos recursos (MERRIL, 2015), constituindo um grande obstáculo para enfrentar as mudanças climáticas e o desenvolvimento sustentável (HENOK, 2017).

2.1.6. Mineração de carvão em Santa Catarina e o meio ambiente

A exploração do carvão catarinense teve seu início em meados do século XIX (MCEIASB, 2009), a qual passou a ser produzida em escala industrial a partir de 1910, explorando algumas dezenas de minas até 1930. Entretanto, ao longo do século XX o carvão foi ocupando o lugar da agricultura em muitas pequenas cidades da região (CASTILHOS & FERNANDES, 2011).

Na década de 1940, com a criação da Companhia Siderúrgica Nacional (CSN), Santa Catarina liderou a produção nacional de carvão, e a CSN comandou a construção de um complexo industrial, formado por minas de carvão nos municípios de Siderópolis e Criciúma, e usinas de beneficiamento e termoelétrica no município de Capivari/Tubarão (CASTILHOS & FERNANDES, 2011).

Em 1970, o governo militar assumiu o transporte, beneficiamento e compra integral da produção do carvão e, o segundo choque do petróleo fez o governo federal investir ainda mais, oferecendo estímulos e subsídios para o carvão (CASTILHOS & FERNANDES, 2011). Essas medidas impulsionaram a produção anual, que em 1985 chegaram à casa dos 19 milhões de toneladas, com 15 mil trabalhadores nas minas.

A extração e o beneficiamento do carvão na bacia catarinense resultaram em impactos ambientais como: a deposição de materiais contaminantes; poluição dos recursos hídricos e solo, e impactos a fauna e à flora (LOPES, SANTOS & GALATO, 2009). Constituindo-se, como um dos mais graves impactos ambientais promovidos pela mineração (CETEM, 2013). A degradação dos recursos naturais tornou-se alarmante (SANTOS, 1995). Ao ponto de o governo federal reconhecer os danos causados ao meio ambiente pela exploração e manipulação inadequadas do carvão e a região carbonífera foi declarada “área crítica de poluição industrial” (DECRETO Nº 85.206, DE 25 DE SETEMBRO DE 1980).

Os rejeitos produzidos pela mineração de carvão, em 123 anos de exploração na bacia, ocupam uma área superior a 20 km² e os efeitos da (DAM) poluiriam a água em 24 municípios catarinenses, prejudicando uma população estimada de 650 mil pessoas (GANDRA, 2007; CETEM, 2013). Em 1983, em uma das áreas analisadas, no município de Siderópolis, constatou-se a contaminação nas águas superficiais e nos aquíferos, causada essencialmente pela oxidação da pirita e da marcassita (ANTUNES, 2004).

E, em 2002 e 2004 a avaliação da qualidade das águas na bacia dos rios Araranguá, Tubarão e Urussanga, revelaram elevada contaminação em muitos trechos da região, onde o baixo pH, e os altos teores de substâncias tóxicas, chamaram a atenção dos pesquisadores. Além disso, existiam longos trechos de rio aparentemente sem a presença de qualquer peixe ou animal aquático (CASTILHOS & FERNANDES, 2011).

O cenário atual, da bacia carbonífera catarinense incluiu locais com superfícies impactadas pela mineração de carvão, distribuídos em áreas adjacentes às minas, locais de depósitos de rejeitos e margens de cursos d'água, que em condição natural estariam ocupadas por floresta nativa do Bioma Mata Atlântica. Estas fitofisionomias desempenham importante papel na proteção dos recursos hídricos e por este motivo, sua recuperação é considerada fundamental para a melhoria ambiental e social da região (NICOLEITE *et al.*, 2013).

Todavia, pelo elevado grau de degradação, estes locais perderam ou diminuíram significativamente a capacidade de auto-recuperar-se, necessitando de uma intervenção ativa para mudança a uma condição não degradada (NICOLEITE *et al.*, 2013).

2.1.7. Mitigação e recuperação ambiental na mineração catarinense

As medidas de mitigação e restauração de impactos na bacia carbonífera catarinense iniciaram-se na década de 90 e início do século XXI. O comitê Gestor para a Recuperação Ambiental da Bacia Carbonífera de Santa Catarina (BRASIL DECRETO 14. 12. 2000) de 2000 a 2009, promoveu monitoramento da qualidade das águas da Bacia Carbonífera e o mapeamento de bocas de minas desativadas e abandonadas, dentre outras questões (ANTUNES, 2004).

O Sindicato da Indústria de Extração de Carvão do Estado de Santa Catarina (SIECESC) e o Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) elaboraram em conjunto um projeto de reabilitação ambiental para as empresas carboníferas filiadas ao sindicato. O qual envolvia um sistema integrado de gestão, incorporando diagnóstico ambiental e planejamento de

ações de recuperação para a região (NASCIMENTO *et al.*, 2002; SOARES & TRINDADE, 2002). Em 2007, o CETEM e a Carbonífera Criciúma, criaram a Estação Experimental Juliano Peres Barbosa, a fim de monitorar e reduzir os efeitos no meio ambiente da DAM provocada pelos rejeitos de carvão mineral (MCEIASB, 2009).

A estação passou a avaliar a melhor maneira de reduzir a formação de DAM, a partir da cobertura dos rejeitos de forma técnica adequada (POSSA *et al.*, 2014) e a estudar alternativas para tratamento de efluentes, importação de sistemas de gestão ambiental, e a dinâmica das águas subterrâneas na Mina do Verdinho, para compreender a forma, como elas eram atingidas pela poluição (GANDRA, 2007; POSSA *et al.*, 2014).

Atualmente, em conformidade com o novo código florestal brasileiro (BRASIL, 2012) e levando em consideração os critérios técnicos para recuperação de áreas degradadas pela mineração de carvão em Santa Catarina (BRASIL, 2013), o qual inclui: levantamento de dados físicos químicos e biológicos; conformação topográfica; isolamento de materiais contaminantes; construção de sistema de drenagem e construção do solo, etapas fundamentais para a implantação de projeto de revegetação nestas áreas (POLZ, 2008; ROCHA *et al.*, 2009).

Iniciativas de recuperação florestal de Matas Ciliares (NICOLEITE *et al.*, 2013) e demais áreas tem sido empregadas. Para tal, os rejeitos alocados a céu aberto, estão sendo reaproveitados e os seus espaços reconstituídos com solos de empréstimo. Sobre esses solos, em conjunto com plantas de cobertura como a *Brachiaria* spp., *Calopogonio* sp e *Penisetum* spp. dentre outras, mudas de espécies vegetais nativas com simbiose microrrgânica pré-estabelecida, estão sendo implantadas. Todavia, a *Brachiaria* spp., pelo caráter perene e crescimento competitivo, têm provocado sufocamento e morte de parte das mudas implantadas (NICOLEITE *et al.*, 2013).

Além da atividade primordial de cobertura e adubação, que as plantas de coberturas conferem aos ambientes de solo de empréstimo, é desejável que as mesmas não afetem negativamente as mudas introduzidas e a estrutura das comunidades microbianas do solo, concorrendo para uma resposta ambiental mais rápida e efetiva.

Por outro lado, embora se tente recriar condições para o restabelecimento das interações ecológicas solo-biota, buscando reconstruí-las com formas e funções semelhante às originais, a característica e a resiliência do solo construído após a mineração, dependem da variabilidade herdada dos materiais geológicos e dos diferentes processos construtivos (SPIAZZI, 2011; NICOLEITE *et al.*, 2013), que em geral, apresentam baixos teores de matéria orgânica, desestruturação e restrições químicas, físicas e biológicas, o que leva a uma baixa atividade microbiana no solo.

Desta forma, na introdução de plantas de cobertura, a atenção também deve ser dada as espécies com maior produção de biomassa, e que, estabelecem mutualismo com microrganismos edáficos ou potencialize as suas atividades, para estimular o restabelecimento das interações ecológicas e a estabilidade do ecossistema.

2.2. PLANTAS DE COBERTURA DO SOLO NA RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS

As alterações das condições naturais no solo ocasionados pela atividade de mineração de carvão provocam mudanças na sua estrutura física, química e biológica, ou ainda acarretam a degradação do mesmo, perda, ou rearranjo de seus componentes. A manipulação que envolve a remoção da cobertura vegetal e grandes volumes de estéril, ou mesmo a destruição dos seus horizontes superficiais, a qual resulta na inversão dos horizontes-camadas do solo (CPRM, 2010; NICOLEITE *et al.*, 2013), induz o solo a sua exposição direta ao sol, a chuva e aos ventos (CETEM, 2013), principais agentes causadores da degradação dos solos nas condições tropicais e subtropicais (CALEGARI *et al.*, 1993).

O abrandamento ou sustação deste processo, que torna o solo exposto e vulnerável a fenômenos climáticos, hídricos e térmicos, demanda a adoção de iniciativas de manejo, que favoreçam sua permanente cobertura com matéria viva ou morta, para restabelecer a reciclagem de matéria orgânica, preferencialmente aquelas com plantas com propriedades condicionadoras e fertilizantes do solo (CALEGARI *et al.*, 1993).

Contudo, a recuperação se deve a complexos processos químicos, físicos e biológicos, onde o grande desafio a ser alcançado é o estabelecimento do horizonte A do solo, onde esses processos sejam catalisados pela biosfera, surgindo outros horizontes conforme o condicionamento natural do solo (MORALES, 2010).

A recuperação da área de mineração de carvão envolve um conjunto de ações que proporcionam o restabelecimento da funcionalidade do solo no ecossistema. A revegetação é uma importante etapa na recuperação, que visa à recuperação paisagística da área, controle dos processos erosivos e o restabelecimento das propriedades físicas, químicas e biológicas (NETO, 2011).

No âmbito de manejo e conservação do solo, onde se tem como objetivo, a recuperação ou manutenção de sua fertilidade, o destaque especial é conferido a adubação verde, prática que os povos da antiguidade

utilizavam com sucesso (FLORENTIN *et al.*, 2011) A qual proporciona melhoria nos atributos de agregação, aeração, infiltração, retenção de água no solo, ciclagem, aporte de nutrientes e atividade e qualidade dos microrganismos edáficos (FILHO *et al.*, 2014) e, se apresenta, como uma das práticas mais promissoras, viáveis e eficientes (CALEGARI, *et al.*, 1993; ERASMO *et al.*, 2004; FILHO *et al.*, 2014).

No solo estas plantas contribuem significativamente para a manutenção e melhoria dos atributos físicos (BASH *et al.*, 2012; CALEGARI *et al.*, 2010), químicos e biológicos (BOLLIGER *et al.*, 2006; CALEGARI *et al.*, 2008) e o equilíbrio ambiental (FILHO *et al.*, 2014). Visto que, o equilíbrio das interações de propriedades químicas, biológicas e físicas condiciona um dos fatores de crescimento vegetal, que é o solo (FILHO *et al.*, 2014).

As plantas utilizadas para cobertura do solo devem possuir capacidade de produção de grande quantidade de matéria seca (MS) e, elevada taxa decrescimento (FABIAN, 2009). Dentre elas destacam-se aquelas que produzem expressiva quantidade de fitomassa mesmo em solos ácidos e com baixa fertilidade natural, denominadas de plantas recuperadoras de solos (ALVES *et al.*, 2006; FILHO *et al.*, 2014), e as leguminosas que promovem o aporte de nitrogênio (N) atmosférico através da fixação biológica (ERASMO *et al.*, 2004) e a elevação do pH, e as gramíneas constituindo alta relação C/N.

No entanto, além da fixação biológica, uma significativa parcela de N é obtida através da elevada capacidade dos diferentes materiais reciclarem este elemento, caso de algumas plantas de coberturas que apresentam grande volume de biomassa e alta capacidade de absorver N (ALVES *et al.*, 2006).

Assim as plantas de coberturas são utilizadas nas formas de: adubo eficiente e acessível, uma vez que, as adubações verdes elevam a capacidade produtiva do solo com baixo custo (BORGES, 2016), cujos efeitos benéficos da matéria orgânica se tornam mais expressivos em solos quimicamente mais pobres, com texturas mais grosseiras (MORALES, 2010).

E como práticas de manejo ecológico desempenhando significativos benefícios, entre eles a melhoria da estrutura e das características química, física, e atividades biológica do solo (SAMINÉZ *et al.*, 2002; DONADELLI *et al.*, 2010), a profundidade, ou o controle de fitonematóides nocivos por determinadas leguminosas como mucuna-preta e crotolária (MORAES *et al.*, 2006).

As plantas de cobertura também promovem um conjunto de ações integradas para proteção de chuvas de alta intensidade e precipitações elevadas, mantém altos índices de infiltração pelo efeito simultâneo do sistema radicular com a cobertura vegetal e a matéria orgânica depositada no

solo (BASH *et al.*, 2012), agrega canais a estrutura do solo e atenua o impacto das gotas de água, primeira etapa da erosão (FILHO *et al.*, 2014) e evita a desagregação superficial das partículas e reduzindo a velocidade de escoamento das enxurradas. Uma vez que, a erosão constitui-se na principal causa da degradação dos solos (CANTALISE & BEZERRA, 2009), e as plantas de cobertura aumentam a estabilidade dos agregados do solo em água na camada de 0,0-10,0 cm. (FABIAN, 2009).

A erosão está associada a processos intensivos de lixiviação de nutrientes como, o nitrogênio na forma nitrato (NO₃), que se apresenta como um dos principais nutrientes sujeitos a percolação e ao arraste pela água através do perfil do solo. Essa perda, não só afeta os custos de produção de culturas e de introdução e estabelecimento de espécies vegetais nativas, mas, pode causar eutrofização de águas superficiais e gerar problemas de contaminação dos aquíferos (MIYAZAWA, 2011), resultando em prejuízos ambientais e econômicos.

A produção de um aporte de fitomassa ajuda a manter e elevar o teor de matéria orgânica do solo, condição, que faz diminuir as oscilações térmicas, a evaporação das camadas superficiais e, aumentar a capacidade de retenção e disponibilidade de água para outros vegetais. Que por meio de uma grande produção de raízes, mesmo em condições restritivas, rompem as camadas adensadas e promovem aeração e a estruturação, o que pode se entender como preparo biológico do solo (CALEGAR *et al.*, 1993; FILHO *et al.*, 2014).

O acúmulo de resíduos de matéria orgânicas no solo, incrementa a atividade biológica, aumentando o número de espécies de organismos que conduzem a um equilíbrio natural (FILHO *et al.*, 2014) e, a o criar condições favoráveis a o aumento da vida biológica no solo e a intensificação de suas atividades, promove e incrementa de forma mais eficiente à mobilização e a reciclagem de nutrientes, auxiliando na recuperação de solos degradados e de baixa fertilidade (PANDOVAM, 2010).

As plantas usadas como adubo verde, têm sistema radicular profundo e ramificado, que retiram nutrientes das camadas sub-superficiais do solo, e quando a fitomassa é incorporada ou deixada na superfície, esses nutrientes são liberados gradualmente na forma assimilável nas camadas superficiais, durante o processo de decomposição. Ficando assim disponível as plantas e culturas subsequentes (CALEGARI *et al.*, 1993).

Em consórcio de plantas de coberturas do solo é possível agrupar as vantagens de cada espécie, obtendo-se uma fitomassa quantitativa e qualitativamente superior àquela obtida em cultivo isolado de cada espécie

(ALVES *et al.*, 2006), tornando o sistema de cultura consorciada mais efetivo. As consorciações também promovem o aumento da ciclagem de nutrientes, a redução da infestação de pragas, o aumento da atividade biológica e maior resistência a estresses (AMADO, MIELNICZUCK & AITA, 2002).

Em esforços de seleção de plantas de cobertura para a efetivação de uso na proteção do solo, e no fornecimento de nutriente (principalmente N), a produção de MS e a quantidade de nutrientes acumulados têm sido os principais parâmetros considerados para a seleção das espécies avaliadas (ALVES *et al.*, 2006). Assim, em áreas de recuperação ambiental impactadas por rejeitos de mineração surgem o emprego das leguminosas herbáceas que possuem essa característica, além dos outros benefícios que oferecem as leguminosas arbóreas (BRASIL, 2013).

Na execução de projetos de recuperação de áreas impactadas pela mineração na Bacia Carbonífera de Santa Catarina a cobertura herbácea faz-se necessária para a minimização dos processos erosivos, da erosão laminar e em sulco (NICOLEITE *et al.*, 2013).

Dentre as plantas de coberturas herbáceas presentes nos processos de recuperação destas áreas estão as gramíneas introduzidas intencionalmente ou pelo surgimento espontâneo (NICOLEITE *et al.*, 2013; SILVA, 2016) através de bancos de sementes existentes nos solos, de substrato empregado no remodelamento topográfico, ou ainda da dispersão de áreas adjacentes às recém recuperadas (SILVA, 2016).

Além das gramíneas, os processos de recuperação destas áreas têm utilizado também as leguminosas herbáceas como o calopogônio *Calopogonium mucunoides desv.*, Por possuir grande adaptação a solos de baixa fertilidade natural, ser capaz de atingir 80% de seu rendimento máximo sob 60% de saturação de alumínio e 4 mg de P/kg, tolerar o manganês tóxico e após o estabelecimento apresentar excelente vigor e alta produtividade, tornando-se muito competitivo (COSTA *et al.*, 2009), e por demonstrar potencial para uso em áreas altamente impactadas em solos da Caatinga Mineira, incrementando N, P, K, Ca, Mg e matéria orgânica e a capacidade de retenção de umidade ao solo (TEODORO *et al.*, 2011).

Sendo muito resistente à seca e desenvolvendo-se muito bem em solos pobre, mesmo muito ácido (TORÁCIO, GOETZKE & SABBI, 2012). O qual é possível mencionar como espécie recuperadora da qualidade do solo (FARIAS *et al.*, 2013) e exemplo de leguminosas utilizadas como adubo verde e na consorciação com gramíneas (SOARES, 2006). Sendo, comumente empregada em programas de recuperação ambiental no Brasil (CHAER *et al.*, 2011).

As gramíneas em função da alta capacidade de produzir resíduos culturais com relação C/N superior a 30 o que implica em taxa de decomposição menor que as leguminosas, e da importância de outros aspectos, como a capacidade de ciclarem, além de N outros nutrientes como P, K e S (FILHO *et al.*, 2014). Também estão entre as mais requisitadas para tal prática, entre elas: o milheto (*Pennisetum glaucum L.*) e a braquiária (*Brachiaria brizhanta cv.*) que além de lignina acumulam elevados teores N, P, K (SOARES, 2006).

O milheto por sua vez é adaptado a solos pouco férteis (sobretudo em P) e com média tolerância a Al (FILHO *et al.*, 2014). Além de possuir boa persistência em solos com baixa fertilidade e déficit hídrico, enquanto a braquiária é uma gramínea perene, muito adaptada e vigorosa, crescendo em diversos tipos de solo (TORÁCIO, GOETZKE & SABBI, 2012), com elevado rendimento MS e uma maior ação agregadora de solo do que as leguminosas (SILVA *et al.*, 1998). Além, proporcionar o enriquecimento da macrofauna das leguminosas arbóreas e a qualidade do sistema solo-planta (DIAS *et al.*, 2006). Condições, que podem favorecer a estabilidade e o bloqueio dos processos erosivos dos solos de empréstimos e o estabelecimento das leguminosas arbóreas no processo de revegetação.

Desta forma, a utilização de calopogônio como fonte de N, e do milheto e a braquiária como fonte de lignina, C e proteção (em culturas solteiras ou consorciadas), é particularmente importante em solo pobre de matéria orgânica e conseqüentemente de N disponível, como os solos de empréstimos encontrados em áreas de mineração de carvão em recuperação (NICOLEITE *et al.*, 2013), que ainda entre outros precisam amenizar os processos erosivos.

2.3. BIOCARVÃO

2.3.1. Biocarvão origem e uso

Há indícios que há cerca de 38 mil anos o homem (Cro-Magnon) já havia produzido carvão a partir da queima de biomassa em amontoado no solo (ANTAL & GRONLI, 2003). Atualmente, os estudos com o biocarvão têm crescido muito e atingem proporções de escala mundial envolvendo diversas áreas (TRAZZI, 2014). O biocarvão é um produto oriundo da pirólise de matérias orgânicas, ou seja, produzido a partir da carbonização ou queima parcial de resíduos, basicamente qualquer fonte de biomassa (MAIA, 2011), cama de aviário, casca de arroz, serragem, resíduos de tratamento de efluentes, bambu...com a pirólise ocorrendo em temperaturas acima de 350°C e em condição de baixa ou isenta concentração de oxigênio.

O biocarvão é um material carbonáceo não utilizado como combustível, por razão do seu propósito de uso (KOOKANA *et al.*, 2011), a designação biocarvão é dada em função de o mesmo ser produzido especificamente para ser aplicado ao solo, com a função de manejo e gestão, ambiental ou agrônômica (BROWN, 2009; LEHMANN & JOSEPH, 2009; MAIA, 2011; NOBREGA, 2011).

O uso desses resíduos vegetais carbonizados vem sendo resgatado e avaliado como alternativa para melhorar a produção das culturas e o crescimento de mudas florestais nos programas de revegetação. O uso do biocarvão contribui para a manutenção e o aumento da fertilidade do solo (TRAZZI, 2014). O biocarvão tem poder fertilizante, sendo fonte de P, Ca, K, Mg, Mn, Zn e B, porém sua utilização deve ser bem assistida por possuir características químicas limitantes como pH e sais (MORALES, 2010).

2.3.2. Composição, características, estrutura e propriedades do biocarvão

O biocarvão é obtido por muitos processos e suas qualidades são dependentes de cada processo e do material em que o processo é aplicado (SOHI *et al.*, 2010). Devido às diferenças na composição química (teores de lignina, extrativos, celuloses e hemiceluloses), na morfologia desses materiais e nas condições da pirólise, o produto obtido apresenta características físicas e químicas particulares, tais como porosidade, superfície específica, capacidade de troca iônica e recalcitrância (MAIA, 2011). Contudo, há algumas propriedades mais presentes em todos os biocarvões, incluindo pH entorno de 7, o alto teor de carbono e aromaticidade estável, o que explica seu alto nível de recalcitrância (TRAZZI, 2014).

A formação do biocarvão promove uma reordenação nos átomos do material pirolisado, resultando na melhoria das propriedades químicas e físicas e no aumento da capacidade de troca de cátions e adsorção de nutrientes (ATKINSON *et al.*, 2010). A composição estrutural do biocarvão também é dependente da combinação da matéria prima e das condições de pirólise, sendo a temperatura de pirólise, o mais importante parâmetro a se considerar no processo de produção do biocarvão (TRAZZI, 2014).

Suas propriedades físico-químicas são determinantes para o sucesso de sua utilização no solo, e a heterogeneidade de composição das propriedades físico-químicas e de superfície específica do biocarvão, refletem nas respostas agrônômicas e ambientais. Enquanto, o tipo de solo e a cultura explorada também respondem diferentemente a esses materiais (MAIA, 2011).

2.3.3. Biocarvão a interação com o solo e o papel condicionador

O biocarvão é um produto de granulometria variável (LEHMANN & JOSEPH, 2009), sendo que, quando esta granulometria é constituída por fragmentos muito pequenos, apresenta atividade química na sua superfície no sentido de adsorver compostos orgânicos solúveis, reter água e servir como abrigo para microrganismos do solo (BENITES, MADARI & MACHADO, 2005; LEHMANN & JOSEPH, 2009).

O biocarvão pela sua estrutura física quando usado como substrato no solo aumenta a superfície específica (MUKHERJEE, LAL & ZIMMERMAN, 2014) e gera o provimento de refúgio para fungos e bactérias colonizadoras do solo nos microporos (WARNOCH *et al.*, 2007; THIES & RILLIG, 2009). Com efeito, positivo na incidência, abundância e funcionamento de fungos micorrízicos, mostrando que estes fungos respondem mais positivamente à aplicação de biocarvão que a outros tipos de material orgânico (WARNOCH *et al.*, 2007; TRAZZI, 2014).

Atua na proliferação facilitada de fungos, actinobactérias, além de facilitar a proliferação de microrganismos benéficos (FREITAS *et al.*, 2014) e, de estimular e promover o crescimento e a atividade microbiana e aumentar a diversidade biológica do solo (MAIA, 2011; SANTOS, MADARI & TSAI 2012). O biocarvão apresenta uma elevada área de superfície de contato, a qual interage com outros componentes do solo, esse comportamento faz dele um substrato, que melhora as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (MADARI *et al.*, 2004; MAIA, 2011).

Entretanto, o biocarvão de cama de frango pode selecionar grupos específicos, aumentando o grupo das bactérias gram-negativas e diminuindo proporcionalmente o grupo das gram-positivas, além de promover variação de abundância relativa em actinobactérias e fungos (DUCEY, NOVAK & JONSON, 2015).

No solo os biocarvões também interagem na adsorção de substâncias prejudiciais ao meio ambiente como a atrazina e acetochlor presentes em herbicidas e pesticidas, resultando na diminuição da lixiviação destas substâncias (SPOKAS *et al.*, 2009), e o fenatreno hidrocarboneto aromático policíclico, com uso de biocarvão de *pinus radiata* de alta aromaticidade (ZHANG *et al.*, 2012). E ainda o biocarvão de *Eucalyptus ssp.* promove a redução da absorção de chlorpyrifos e carbofuran (derivados de herbicidas e inseticidas que são prejudiciais à saúde humana) nas plantas de cebola (*Allium cepa*) (YU. YING & KOOKANA, 2009).

Como condicionador de solo, o biocarvão atua melhorando as propriedades físicas de compactação, porosidade, baixa infiltração,

permeabilidade de água..., químicas de aumento do pH, Ca, Mg, P, K, N (LEHMANN & JOSEPH, 2009; TSAI *et al.*, 2012) e de disponibilidade de Ca e Mg e redução da acidez trocável (MAJOR *et al.*, 2010) e ainda microbiológicas, ao fornecer substrato e elevada área de superfície interna como habitat altamente adequado para colonização (LEHMANN & JOSEPH, 2009).

Promove melhorias nas propriedades químicas do solo, tanto como substrato em vasos, quanto da sua aplicação a campo, aumenta a capacidade de troca de cátions e carbono orgânico e melhora a disponibilização de nutrientes, a estrutura do solo e a disponibilidade de água (TRAZZI, 2014).

O biocarvão apresenta estruturas bastante estáveis no solo e tem potencial para promover modificação na capacidade de retenção de água direta em longo prazo, por meio de sua natureza frequentemente porosa (TRAZZI, 2014) e da capacidade de elevar a retenção de água (LIANG *et al.*, 2006). Com efeito, positivo na estabilidade hídrica uma vez que, o biocarvão de cavacos de madeira de *Robinia pseudoacacia* L aumentou a disponibilidade de água em 97% e o conteúdo de água em 56% e reduziu a condutividade hidráulica (UZOMA *et al.*, 2011).

Já Devereux, Sturrock & Mooney (2012), observaram que, o aumento da concentração de biocarvão no solo diminuiu a condutividade hidráulica, densidade do solo e a repelência de água no solo. Os autores também concluíram que o biocarvão pode aumentar a retenção de água em solos propensos a períodos de seca. O biocarvão favorece o crescimento da produtividade de biomassa das plantas devido melhoria dos atributos do solo ou de um possível efeito eletrofisiológico (LEHMANN & JOSEPH, 2009) e o aumento na disponibilidade de nutrientes pela alteração da biota do solo (LEHMANN *et al.*, 2011).

Diminui as perdas de nutrientes por lixiviação e promove aumentos no teor de matéria orgânica do solo, mesmo em solo arenoso (OMIL, PIÑEIRO & MELINO. 2013), na fixação biológica de nitrogênio e na disponibilidade de boro, molibdênio, cálcio, potássio e fósforo (RONDON *et al.*, 2007; KOOKANA *et al.*, 2011), atuando também na redução da densidade e no aumento elevado da porosidade do solo (LIANG *et al.*, 2006; DEVEREUX, STURROCK & MOONEY (2012); MUKHERJEE, LAL & ZIMMERMAN, 2014).

A qual está fortemente relacionada à ampliação das transferências gasosas e ao auxílio para o desenvolvimento biológico (DAMEME, 2016) Além de favorecer a absorção e incorporação de nutrientes pelas plantas como: N, P, K, Ca e Mg (ZHÃO *et al.*, 2014) e principalmente N e P (SOUSA, 2015).

2.3.4. Biocarvão e o crescimento vegetal

O aumento nas adições de carbono orgânico melhora a retenção de nutrientes que se tornam acessíveis aos microrganismos na superfície da partícula (LEHMANN *et al.*, 2011). O processo de produção do biocarvão promove um rearranjo dos átomos de C, aumentando largamente a porosidade do material (LEHMANN & JOSEPH, 2009; ATKINSON *et al.*, 2010), cujo o aumento da porosidade ocorre devido ao processo da queima incompleta de restos de materiais orgânicos (FERREIRA *et al.*, 2015).

Isto proporciona um aumento na sua área de superfície específica, a qual constitui um ambiente favorável à proliferação de fungos e bactérias que ajudam as plantas a absorver melhor os nutrientes do solo (LEHMANN & JOSEPH, 2009), e tem sido utilizado em ambientes agrícolas a fim de estimular a colonização microbiana. A comunidade microbiana estimulada e protegida também desempenha papéis fundamentais na disponibilização de nutrientes no solo, como fósforo, nitrogênio e enxofre, além de uma série de micronutrientes essenciais (WARNOCK *et al.*, 2007; ATKINSON, FITZGERALD & HIPPS, 2010).

Com reflexo positivo no crescimento e produtividade de culturas, tais como da soja e arroz e nas plantações de mandioca, milho, pimentão e cana-de-açúcar (ANDRADE, 2015) e ainda na produção de mudas para reflorestamento. De acordo com Jeffery *et al.*, (2011) os biocarvões provenientes de cama de aviário proporcionam os mais altos ganhos em crescimento e produtividade vegetal nas culturas agrícolas.

Entretanto, seja na forma isolada ou em conjunto com outro nutriente, o uso de biocarvão de diversas origens em diferentes volumes ou combinações de aplicação e graus de pirólise, tem comprovado o seu potencial para melhorar a fertilidade do solo e nutriente uso eficiente em culturas (UZOMA *et al.* 2011). Shulz, Dunst & Glaser (2013) utilizando 6 tipos de biocarvão compostado no crescimento de aveia (*Avena sativa* L.) observaram médias superiores na biomassa aérea com incrementos na altura e no peso em relação ao tratamento controle.

Petter *et al.*, (2012a) avaliaram a interação de combinações de fertilizante químico NPK e combinações de biocarvão de eucalipto sobre o desenvolvimento do arroz de terras altas no Cerrado brasileiro em dois anos consecutivos e concluíram que o biocarvão apresentou efeito significativo no crescimento das plantas e no acúmulo de massa de matéria seca, igual ou maior que o fertilizante mineral.

Chan *et al.*, (2007) utilizando 100 t ha⁻¹ de biocarvão de poda de grama e de algodão, em conjunto com N concluíram que, a produtividade em

massa seca de rabanete (*Raphanus sativus*) aumentou 266%. Os benefícios do biocarvão também são comprovados em plantas arbóreas adultas, Santalla *et al.*, (2011), após quatro anos da aplicação de biocarvão e cinzas, em um povoamento de *Pinus radiata* com 25 anos de idade, observaram incrementos na altura e no diâmetro.

Solla-Gullon *et al.*, (2006) avaliaram os efeitos de biocarvão de resíduos de papel e celulose em *Pseudotsuga menziesii*, aos cinco anos de idade, e concluíram que a altura das plantas aumentou 5,4 a 16% após o quarto ano da aplicação de 10 e 20 t ha⁻¹ de biocarvão.

O biocarvão pelo seu papel condicionador de solo, quando utilizado como componente do substrato para a produção e crescimento de mudas de espécies florestais, apresenta potencial para utilização em plantios de florestas ou em reflorestamento. Em um experimento Plunchon *et al.*, (2014), avaliando o crescimento de mudas espécies florestais, na presença de nove tipos de biocarvões provenientes de coníferas e folhosas, notaram que o biocarvão apresentou efeito positivo ou neutro no crescimento das mudas. Entretanto, os biocarvões de angiospermas apresentaram-se mais efetivos no crescimento das mudas em relação aos biocarvões das gimnospermas, e as mudas de angiospermas responderam melhor ao biocarvões que as mudas de gimnospermas.

Segundo Chidumayo, (1994) em ensaio realizado para avaliar a produção de mudas de espécies arbóreas nativas, o uso de biocarvão de resíduos agrícolas, promoveu o crescimento nas mudas e a produção de biomassa seis das sete espécies avaliadas. O biocarvão também demonstra ser uma alternativa viável na produção de mudas de espécies arbóreas nativas para a recuperação de áreas degradadas. Uma vez que, promoveu o crescimento e a redução da mortalidade de mudas da espécie arbórea nativa carvoeiro (*Tachigali paniculata*) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Em solos carentes de nutrientes e desestruturados, a estabilização e colonização de espécies vegetais regenerantes é um desafio. Todavia, o biocarvão promove o enriquecimento dos nutrientes do solo especialmente N, P e K com respostas em favor de um maior desenvolvimento das plantas (SOUSA, 2015). Além disso, em esforços de revegetação de áreas degradadas mesmo em despojos de minas, pode usar biocarvão como um portador de benefícios para o solo e os microrganismos (LEHMANN & JOSEPH, 2009).

Neste sentido, em solos de empréstimo pobre de nutrientes, com interações ecológicas desestabelecidas e ainda com possíveis resíduos de rejeitos, a utilização do biocarvão poderá favorecer a fixação e o desenvolvimento das plantas de cobertura do solo, simultânea a preservação e a elevação da estrutura e da diversidade das comunidades microbianas nas

áreas de mineração de carvão em recuperação na bacia carbonífera de Santa Catarina.

2.4. A IMPORTÂNCIA DOS MICRORGANISMOS DO SOLO NA MANUTENÇÃO DOS ECOSISTEMAS

Nos ambientes edáficos, a comunidade microbiana pode representar um banco genético para a pesquisa e o desenvolvimento de técnicas: de gestão e conservação dos remanescentes florestais existentes; de recuperação das áreas degradadas ainda viáveis a este processo e ainda de implementação de novos produtos biotecnológicos, considerando-se que os microrganismos representam as formas de vida mais abundantes e diversificadas do planeta, e detêm a maior proporção da diversidade genética existente (LAMBAIS *et al.*, 2005).

Os microrganismos integram a fração orgânica do solo, sendo responsáveis por inúmeras reações bioquímicas relacionadas não só com a transformação da matéria orgânica, mas também com o intemperismo das rochas. Assim, os microrganismos do solo possuem papel fundamental na gênese do solo, na ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica e mineralização dos nutrientes aumentando a disponibilidade destes para as plantas (ALVES, 2014).

Em solos impactados ou alterados, pela sua baixa fertilidade e instabilidade, a camada orgânica e os microrganismos do solo presente nos primeiros centímetros podem ser considerados a mola propulsora da vida, visto que, em trabalho realizado na observação de estágios sucessionais do processo de recuperação natural, em áreas com aproximadamente 46 anos de revegetação, em que a camada superficial do solo foi removida, a floresta ainda se encontrava em estágio inicial de recuperação (DOMINGOS *et al.*, 1997).

Os microrganismos dos solos cumprem funções importantes em praticamente todos os ecossistemas, onde coexistem e se inter-relacionam. A existência e diversidade dos seres vivos no planeta estão intimamente ligadas à diversidade e atividade metabólica de microrganismos. Dentre os principais microrganismos, destacam-se fungos e bactérias, atuando na transformação/decomposição de compostos orgânicos e inorgânicos complexos, tornando-os acessíveis/assimiláveis ou inofensivos para outros organismos.

Estes microrganismos têm forte influencia na origem e manutenção da organização dos constituintes do solo, principalmente nos horizontes superficiais, onde participam na manutenção da fertilidade e estrutura dos

mesmos (MOREIRA & SIQUEIRA 2006; SAMPAIO, 2006; DOCHERTY & GUTKNECHT, 2012).

O ambiente edáfico é dinâmico e, as plantas coabitam e interagem com dois principais tipos de associações mutualísticas com os microrganismos do solo. Nestas associações, parte dos processos indispensáveis para o funcionamento e sustentabilidade dos ecossistemas florestais é atribuída aos fungos micorrízicos e as bactérias fixadoras de N_2 , decorrendo na forma simbiótica (LAMBERS *et al.*, 2009). Especialmente em solos relativamente jovens (LAMBERS *et al.*, 2008).

Uma associação denominada micorrizica a qual favorece o crescimento de vegetais, ocorre entre alguns fungos que circundam ou mesmo penetram nas raízes da maioria das plantas, ampliando largamente a zona radicular devido a extensões de hifas e favorecendo a absorção de água e nutrientes como zinco, manganês, cobre nitrogênio, potássio, cálcio e fósforo (SOARES *et al.*, 2012), que com exceção do nitrogênio são recursos naturais não-renováveis, em contrapartida recebem do hospedeiro certos açúcares, aminoácidos e demais fotoassimilados que precisam para sobreviver.

Os fungos estão intimamente relacionados à vegetação do local, ou seja, alterações na vegetação podem selecionar determinados grupos de fungos (NIELSEN *et al.*, 2010). Entre as associações fungos-plantas destacam-se associações micorrízicas arbusculares, que são as mais frequentes (BRUNDRETT, 2009) e, de caráter cosmopolita, envolvendo intrincados sistemas de comunicação, por várias centenas de milhões de anos de idade, sendo a mais antiga entre as simbioses micorrizicas (LAMBERS *et al.*, 2009).

Os fungos também atuam na degradação de compostos mais recalcitrantes (aromáticos, lignina, celulose e hemicelulose), e na formação e manutenção estrutural do solo. Já as bactérias atuam como decompositoras e saprófitas, tendo função simultânea aos fungos na decomposição de resíduos orgânicos e ainda no controle de poluentes e parasitas vegetais (TEDERSOO *et al.*, 2014).

Certas bactérias α e β , caracterizadas como bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN), em associações com espécies vegetais penetram às raízes de plantas da família das leguminosas, onde há a formação de nódulos radiculares e/ou caulinares como estruturas anatômica e fisiologicamente especializadas para maximizar a transformação do nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (JÚNIOR & REIS, 2008), assimilável a essas plantas, para que possam sintetizar suas proteínas.

Enquanto a planta fornece energia para que o processo possa ser realizado por esses microrganismos (JESUS *et al.*, 2009). A fixação

simbiótica N₂, seja na condição direta, ou indireta, é fundamental para estabilização e desenvolvimento das espécies vegetais em todo o globo, sendo tipicamente muito importante em jovens paisagens e durante a sucessão secundária (LAMBERS *et al.*, 2009).

Baseado no que foi exposto a respeito da importância das bactérias e dos fungos na manutenção dos ecossistemas, torna-se indispensável à importância de conhecer, preservar e potencializar a estrutura das comunidades desses organismos, em áreas degradadas ou mesmo contaminadas, para o restabelecimento dos serviços ecossistêmicos e, conseqüentemente, criar condições para a o estabelecimento e manutenção da flora e de toda a cadeia trófica, visando recuperação das mesmas.

2.5. TÉCNICAS PARA DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS NO AMBIENTE

Estudos têm sido desenvolvidos para identificar os microrganismos presentes nos diferentes ambientes utilizando métodos dependentes de cultivo em meios de cultura, no entanto, pela dificuldade de cultivá-los em meios artificiais, onde se estima que entre 0,1 e 10 % dos microrganismos sejam cultivados, apenas uma pequena porção das comunidades é avaliada (AMANN, LUDWIG & SCHLEIFER, 1995; SOUZA, 2011), uma vez que, muitos desses microrganismos não são dominantes nas comunidades onde são isolados, sendo selecionados pela sua habilidade de desenvolvimento em meios aeróbios com altas concentrações de nutrientes (HUGENHOLTZ, 2002).

Uma alternativa para superar essas dificuldades é a utilização de técnicas moleculares, as quais independem de cultivo e possibilitam acessar uma maior diversidade de microrganismos no ambiente, sendo geralmente baseadas na extração de DNA e posterior reação em cadeia da polimerase (PCR) para análises estruturais qualitativas, utilizando iniciadores previamente desenhados e sintetizados, permitindo o estudo de comunidades e a identificação de microrganismos (RASTOGI & SANI, 2011).

Regiões do DNA ribossomal (rRNA) são as mais utilizadas como cronômetros moleculares, pois ocorrem em todos os organismos, com diferenças em suas sequências que permitem inferir relações filogenéticas entre os grupos, e serem usadas para medir distâncias evolutivas. Os rRNA são pouco afetados pela transferência horizontal de genes, o que caracteriza a presença de sequências conservadas e permite o desenho de iniciadores e sondas de hibridização específicos, a fim de explorar taxonomicamente e

quantitativamente diferentes níveis de especificidade e descrever a filogenia da comunidade microbiana em diferentes habitats (ACINAS *et al.*, 2004).

O gene rRNA 16S é amplamente utilizado como marcador filogenético bacteriano, desempenhando um papel importante como marcador para identificação de genótipo bacteriano (XAVIER *et al.*, 2016). Pois intercala regiões conservadas e variáveis e, está presente em todas as bactérias desempenhando a mesma função, além de permitir a identificação de microrganismos pela presença de bancos de dados *online*, os quais permitem comparar as sequências e realizar afiliações filogenéticas.

Outro ponto importante é o fato do gene rRNA 16S ser pouco afetado por mudanças ambientais, além de ser de fácil manipulação e possuir tamanho suficiente para ser utilizado em inferências filogenéticas e ecológicas (ACINAS *et al.*, 2004; BECKER *et al.*, 2004). Já para fungos, a região do rRNA apresenta-se em um agrupamento gênico composto pelo gene 18S/SSU, o gene 5,8S e o gene 28S/LSU, respectivamente, separados por regiões espaçadoras denominadas ITS I e ITS II.

A região ITS é a mais utilizada em inferências filogenéticas, pois além de possuir uma alta variação interespecífica, é constituída por regiões alternadas de segmentos conservados, possui um grande número de cópias no genoma, as quais são relativamente curtas, facilitando sua amplificação, bem como, por ser a região do genoma fúngica com maior número de sequências depositadas em bancos de dados mundiais, permite a classificação filogenética da maioria das sequências. Desse modo, a região ITS é aplicada na diferenciação/comparação e quantificação de organismos distantemente relacionados, ou mesmo para discriminar gêneros e espécies que constituem relações filogenéticas mais próximas (LIMA, 2012).

Alternativamente, para o estudo da estrutura das comunidades microbianas em amostras ambientais utilizando as regiões do genoma bacteriano e fúngico destacados, técnicas de *fingerprint* têm sido empregadas, dentre as quais podemos destacar a eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE).

Essa técnica foi desenvolvida para detectar modificações de uma única base em DNA genômico, DNA clonal e DNA amplificado por PCR, permitindo distinguir fragmentos que diferem numa só base, ou que tendo o mesmo número de bases têm diferentes conformações (PELT-VERKUIL, VAN BELKUM & HUIS, 2008). Sendo expandido seu uso para o estudo da organização da estrutura das comunidades microbianas em diferentes ambientes (MUYZER, de WAAL & UITTERLINDEN, 1993).

A técnica da PCR-DGGE baseia-se na amplificação, por PCR, de fragmentos de DNA de fita dupla com mesmo tamanho, os quais são obtidos a partir da utilização de iniciadores específicos para a região de

interesse. Embora do mesmo tamanho, a sequência de nucleotídeos dos organismos avaliados é divergente. Estes fragmentos são submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida com gradiente de agentes desnaturantes de uréia e formamida (FAKRUDDIN & MANNAN, 2013).

Na separação das fitas de DNA no gradiente desnaturante, os fragmentos irão migrar diferencialmente, de acordo com o seu teor de G+C, formando um padrão de bandamento distinto quando houver diferença na estrutura da comunidade de determinados ambientes (RASTOGI & SANI, 2011). No entanto, fragmentos diferentes podem ter características similares de mobilidade no gel, podendo apresentar o mesmo teor de G+C em diferentes posições ao longo do fragmento de DNA e uma banda pode, não necessariamente, representar um único amplicon (GELSOMINO *et al.*, 1999).

A PCR-DGGE permite detectar aproximadamente 50 % das variações de sequências em fragmentos de DNA, com pequenas dimensões até 500 pares de base (pb) (OLIVEIRA, 2010), no entanto, com a implementação nos iniciadores de um grampo de GC (*GCclamp*), impedindo a dissociação completa das duas fitas de DNA durante a eletroforese, a sensibilidade de detecção nas variações das sequências aumentou significativamente (FAKRUDDIN & MANNAN, 2013).

Essa técnica mostra-se como uma ferramenta eficiente na detecção de mudanças na estrutura de comunidades microbianas em função de alterações ambientais causadas por práticas de manejo e/ou associadas à variabilidade de atributos mensurados nas amostras analisadas (FAKRUDDIN & MANNAN, 2013). Dessa forma, vem sendo cada vez mais utilizada para análise de estrutura de comunidades microbianas, mesmo em ambientes naturais, pouco estáveis como áreas de restinga (PINTO, 2015), áreas agrícolas (RACHID *et al.*, 2012) e, também em áreas de mineração contaminadas por elementos-traço (SANTOS *et al.*, 2015),

Trabalhos envolvendo técnicas de PCR-DGGE em microbiologia do solo, nas áreas degradadas pela mineração de carvão em processos de recuperação na bacia carbonífera catarinense já foram realizados. Silva (2016) comparou a estrutura de comunidades microbianas edáficas (bactérias e fungos totais) de áreas com plantio de bracatinga (*Mimosa scabrella*) em diferentes tempos de recuperação, com área de ocorrência natural. Sulzbach (2015) caracterizou a estrutura das comunidades de bactérias totais, e redutoras de sulfato (BRS) a partir de sedimentos de bacias de contenção de DAM.

Neste sentido, justifica-se a utilização desta técnica para avaliação da estrutura das comunidades microbianas de bactérias e fungos totais de

amostras de solo de empréstimo de áreas degradadas pela mineração em fase de recuperação na bacia de Santa Catarina em Treviso-SC.

3. HIPÓTESES

- A presença de plantas de cobertura de solo afeta a atividade e a diversidade da microbiota do solo de áreas degradadas pela mineração em recuperação.
- O biocarvão, pelo seu efeito condicionador e benefícios para os atributos químicos e físicos do solo, favorece o crescimento das plantas de cobertura, com conseqüente benefício para as comunidades microbianas do solo.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar, a influência de plantas de cobertura e de biocarvão sobre a atividade e a estrutura de comunidades microbianas do solo de áreas de mineração de carvão em recuperação.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos de biocarvão sobre a produção de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca radicular (MSR) das plantas de coberturas Calopogônio (*Calopogonium mucunoides desv*), Milheto (*Pennisetum glaucum L*) e Braquiária (*Brachiaria brizantha A. Rich. Cv Marandu*) (culturas solteiras e consorciadas).
- Determinar o acúmulo de nitrogênio (N) e de fósforo (P) da parte aérea das plantas de coberturas, (culturas solteiras e consorciadas), na presença e ausência de biocarvão em solo de áreas de mineração de carvão em recuperação.
- Avaliar a influência das plantas de cobertura (culturas solteiras e consorciadas) e de biocarvão sobre o pH e a respiração basal (RB) de solo de área de mineração de carvão em recuperação.
- Caracterizar a estrutura de comunidades de bactérias e fungos totais por PCR/DGGE após o crescimento das plantas de cobertura (culturas solteiras e consorciadas) na presença e ausência de biocarvão em solo de áreas de mineração de carvão em recuperação.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO: BACIA CARBONÍFERA DE SANTA CATARINA

A Bacia Carbonífera catarinense está localizada na região sudeste do estado e compreende uma área de 1.850 km², ou seja, 10% da superfície total do estado de SC, distribuída em uma faixa de 100 km de comprimento e 20 km de largura, entre a Serra Geral ao Oeste e o maciço granítico da Serra do Mar a Leste, seguindo a orientação Norte-Sul (KREBS, 2005). A área escolhida para o estudo situa-se as margens da rodovia SC 446 S/N, com as coordenadas 28°28'32.4''S 49°27'11.1''W, na propriedade da empresa Carbonífera Metropolitana no município de Treviso, região carbonífera de Criciúma-Sul de Santa Catarina. (Figura 2).

Figura 2 - Região Carbonífera de Criciúma



Fonte: Portal da Ação civil Pública do Carvão.

5.2. COLETA DO SOLO

Um solo antropogênico caracterizado como Antropossolo (KÄMPF, SCHNEIDER & GIASSON, 1997), foi coletado na camada de 0-20 cm em uma área impactada com rejeitos de mineração e reconstituída com uma camada de 40 cm de solo de área de empréstimo (Figura 3), visando à

introdução de mudas de espécies arbóreas nativas da Mata Atlântica para recuperação florestal.

Figura 3 - Imagem do local de coleta do solo as margens da SC 446 Treviso-SC



Fonte: Dados do Mapa ©2017Google.

5.3. IMPLANTAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido no período de 27/02 a 29/04/2017, na casa de vegetação do Departamento de Microbiologia do Solo da UFSC. O solo coletado foi desterroado, peneirado em peneira com malha de 2mm, homogeneizado em betoneira e submetido a análises de fertilidade do solo (Laboratório de Solos da EPAGRI, Chapecó-SC) (Tabela 1).

Tabela 1 - Atributos físico-químicos do solo coletado em área de mineração de carvão em recuperação

% argila	pH _{H2O}	Índice	P	K	% M.O.	Al	Ca	Mg		
m/v	1:1	SMP	Mg/dm ³	Mg/dm ³	m/v	cmolc/dm ³	cmolc/dm ³	cmolc/dm ³		
50	4,1	3,9	2,5	96,0	1,6	8,7	0,4	0,6		
H+ Al	CTC pH 7	Al	% Saturação na CTC a pH 7,0					Relações		
cmolc/dm ³	cmolc/dm ³	% m	Bases	K	Ca	Mg	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K	
46,97	48,22	87,48	2,58	0,51	0,83	1,24	0,67	1,63	2,44	

Fonte: ROLAS estados de SC e RS EPAGRI Chapecó.

A partir da análise do pH em SMP (ROLAS-CQFS RS/SC 2004.), o pH do solo foi corrigido para 5,7 adicionando-se calcário dolomítico com PRNT de 70%. O experimento seguiu um delineamento em blocos casualizados (DBC) em esquema fatorial 5x2, com quatro repetições.

Foram testados quatro tratamentos contendo plantas de cobertura: Cal = calopogônio (*Calopogonium mucunoides*); Mil = milheto (*Pennisetum americanum* L.); Bra = braquiária (*Brachiaria brizantha* A. Rich. cv Marandu) e o consórcio destas (Mix), além de um tratamento controle, sem sementeira das plantas de cobertura (Con). Todos esses tratamentos foram avaliados na presença (+B) e ausência (-B) de biocarvão (volume sólido) no solo, totalizando 40 parcelas experimentais (Figura 4).

A unidade experimental consistiu de caixas plásticas com capacidade para 20L de solo com dimensões interna na parte superior de 0,62 x 0,42 m, totalizando 0,26 m² de área superficial para a sementeira. A quantidade de sementes para sementeira nas bandejas baseou-se na recomendação das empresas carboníferas que empregam projetos de revegetação das áreas degradadas, correspondendo a 20 kg ha⁻¹ de calopogônio e 50 kg ha⁻¹ para milheto e braquiária.

Para o tratamento consorciado, foi empregada a recomendação de 40 kg ha⁻¹, sendo um terço desta quantidade para cada planta de cobertura. Desta forma, a quantidade de sementes das plantas de cobertura solteira aplicadas nas parcelas correspondeu a 0,52, 1,30 e 1,30 g/parcela para calopogônio, milheto e braquiária, enquanto para o tratamento consorciado as quantidades foram de 0,17, 0,43 e 0,43 g/parcela, respectivamente Figura 4).

Figura 4 – Esquema do delineamento experimental dos tratamentos: Con (controle); Cal (calopogônio); Mil (milheto) e Bra (brachiária) culturas solteiras e Mix (consórcio) entre as três plantas. Os símbolos -B e +B na parte inferior dos blocos, referem-se ausência e presença de biocarvão nas respectivas parcelas



Fonte: o autor.

Os tratamentos contendo biocarvão (+B) consistiram da adição de biocarvão originado de cama de aviário após pirólise a 400 °C e com densidade de 371,25 g L⁻¹ e granulometria predominante de 500 µm, o qual foi fornecido pela empresa SPPT – Pesquisas Tecnológicas LTDA (Mogi Mirim-SP), cujas características físico-químicas da matéria prima e do biocarvão são apresentadas na (tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização físico-química do biocarvão e da matéria-prima (cama de aviário) a partir da qual o mesmo foi gerado

		Cama de aviário		Biocarvão	
		Média	Erro padrão	Média	Erro padrão
		7,8	0	10,2	0,1
Umidade	%	6,2	0,1	2,8	0
C total	g kg ⁻¹	376	1	429	0
N total	g kg ⁻¹	36,8	0,3	31,8	0
N-NH ₄ ⁺	mg kg ⁻¹	1298	45	407	20
N-NO ₃	mg kg ⁻¹	269	43	10	4
Fósforo	g kg ⁻¹	10,5	0,3	29,4	0,6
Potássio	mg kg ⁻¹	26890	904	47160	1050
Sódio	mg kg ⁻¹	4069	249	7300	186
Cálcio	g kg ⁻¹	21,1	0,8	48,3	0,7
Alumínio	mg kg ⁻¹	474	53	15549	1015
Ferro	mg kg ⁻¹	395	16	8479	528
Enxofre	g kg ⁻¹	6,4	0,1	10	0,4
Magnésio	g kg ⁻¹	3,8	0,1	14,6	2
Molibdênio	mg kg ⁻¹	1,1	0,1	3	0,3
Níquel	mg kg ⁻¹	1	0	3	0,5
Zinco	mg kg ⁻¹	454	10	1070	61
Cobre	mg kg ⁻¹	127	3	607	11
Cromo	mg kg ⁻¹	1,6	0,2	8,2	0,5
Bário	mg kg ⁻¹	35,8	3,9	47,7	0,8
Boro	mg kg ⁻¹	29,4	0,7	47,6	3,8
Manganês	mg kg ⁻¹	345	31	650	15
Arsênio	mg kg ⁻¹	11,1	0,6	4,3	0
Cádmio	mg kg ⁻¹	<1,0	-	<1,0	-
Chumbo	mg kg ⁻¹	<1,0	-	1,8	0,3
Mercúrio	mg kg ⁻¹	<1,0	-	<1,0	-
CTC	mmolc kg ⁻¹	555	28	80	4

Fonte: SPPT – Pesquisas Tecnológicas LTDA (Mogi Mirim-SP).

Baseando-se em estudos prévios deste laboratório (CARON, 2014; ROCHA, 2016) e, de trabalhos em áreas agrícolas, foi testada a aplicação de 1% de biocarvão (v/v) ao solo, que equivaleu a 200 mL de biocarvão por unidade experimental. Antes de efetuar a semeadura, foi inserido a 5 cm de profundidade e ao centro de cada unidade experimental, um cano de PVC

com 15 cm de altura e 10 cm de diâmetro para a leitura da respiração basal do solo (RB) a qual será descrita posteriormente.

A semeadura ocorreu oito dias após a correção do pH do solo, e a incorporação das sementes a 2cm de profundidade, se deu com auxílio de um rastelo. As sementes de calopogônio empregadas nos tratamentos solteiro (Cal) e no consórcio (Mix), foram inoculadas com a estirpe SEMIA BR 6152 *Bradyrhizobium* sp. fornecida pela Embrapa Agrobiologia. Inicialmente a estirpe foi crescida em meio YM (VINCENT, 1970) e a inoculação foi realizada pela imersão das sementes de calopogônio em 5,2 mL de inoculante com densidade ótica (DO_{560}) de 0,5, correspondendo a 10^8 células mL^{-1} .

As sementes foram mantidas sob agitação em erlenmeyer de 250 mL por 30 minutos em mesa agitadora a 40 rpm a temperatura ambiente. Após a germinação das sementes foi realizada adubação conforme recomendação do Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFS RS/SC, 2016). Nos tratamentos contendo calopogônio (solteiro e consorciado) foi adicionado ureia, superfosfato triplo e KCl de modo a fornecer 5, 60 e 100 kg de N, P_2O_5 e K_2O por hectare, respectivamente.

Para os demais tratamentos de plantas de cobertura e no tratamento controle, a adubação foi semelhante a o Cal, exceto pela maior quantidade de N aplicada equivalente a 10 kg ha^{-1} N na semeadura e 80 kg ha^{-1} N em cobertura dividido em duas aplicações de 0,89g cada aos 14 e aos 28 dias após a semeadura. A rega foi efetuada a cada dois dias ou conforme a demanda.

5.4. COLETA DE MATERIAL E DADOS PARA ANÁLISES

Ao longo dos 60 dias de condução experimental foram realizadas medições da emissão de CO_2 do solo para a determinação da respiração basal (RB). Ao total foram realizadas 16 mensurações, sendo a primeira e a segunda amostragem aos três e aos dez dias após a semeadura (respectivamente), enquanto as demais amostragens foram efetuadas com intervalos regulares de três dias.

Para a determinação da RB foi empregado um analisador infravermelho de gás (IRGA) LI-8100A (*LI-COR*® Biosciences Lincoln, NE 68504 USA) o qual apresenta uma câmara de coleta que foi acoplada aos colarinhos de medição, após estes serem inseridos nos locais dos tubos de PVCs presentes nas bandejas (conforme descrito anteriormente) no momento das leituras. Os resultados de respiração basal obtidos pelo equipamento são expressos em $\mu\text{mol } CO_2 / m^2 / \text{seg}^{-1}$.

Ao final do experimento, a biomassa vegetal dos tratamentos foi coletada individualmente e seca em estufa ventilada a 65 °C até atingir peso constante, para determinação da matéria seca da parte aérea (MSPA) e radicular (MSR) e da quantidade acumulada de N e P na MSPA conforme descrito por Tedesco *et al.* (1995). Além disso, amostras representativas de solo foram coletadas na camada de 0 – 5 cm para a determinação do pH do solo em água (relação solo:água de 1:2,5).

Para as análises moleculares foram realizadas amostragens de solo ao final do experimento por meio da coleta de solo aderido às raízes das plantas de cobertura e também no tratamento controle, as coletas de solo foram realizadas na camada de 0 – 5 cm em cinco pontos de cada unidade amostral, sendo um no centro e os demais distando 18cm do ponto central, totalizando 40 amostras compostas de 5 sub-amostras cada, para avaliação dos efeitos do biocarvão e das plantas de cobertura sobre as comunidades microbianas. As amostras de solo destinadas às análises moleculares foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis tipo Nasco ® e armazenadas a - 80 °C.

5.5. CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA DAS COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO

5.5.1. Extração e purificação do DNA total

Para avaliar a estrutura das comunidades microbianas, o DNA total foi extraído utilizando-se o kit comercial “*Power Soil Isolation Kit*” (Mobic Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções estabelecidas no protocolo do fabricante. A integridade do DNA extraído foi confirmada por eletroforese horizontal, em gel de agarose 1 % em tampão TAE 1X (Tris-Acetato-EDTA), corado com Sybr Green (Life Technologies, São Paulo, Brasil) por 40 min. a 60 V. Para a aquisição das imagens dos géis foi utilizado um transiluminador CASVI UV SN 421017066119 (Made in Taiwan).

Para a purificação, foi adicionado ao volume final de 100µL do DNA total, 200µL de etanol gelado e 20µL de NaCl 3 mol L⁻¹. As amostras foram incubadas a - 20 °C por 30min. Após a incubação procedeu-se centrifugação a 14.000 rpm à temperatura ambiente por 10 min, descartando-se o sobrenadante. Ao precipitado, foram adicionados 200µL de etanol 70% gelado e novamente centrifugados a 14.000 rpm por 5 min. com novo descarte do sobrenadante. O precipitado foi mantido dentro do fluxo a

temperatura ambiente até secar completamente (15 min.), sendo posteriormente ressuspensionado em 80µL de H₂O (modificado de SAMBROOK *et al.*, 1988).

5.5.2. PCR-DGGE

A análise da estrutura das comunidades de microrganismos do solo foi feita por PCR-DGGE, pela amplificação de regiões específicas do genoma de bactérias e fungos. A região V3 do gene rRNA 16S de Bactérias foi amplificada com os iniciadores universais para bactérias BAC338FGC (5' GCC CGC CGC GCG CGG CGG GCG GGG CGG GGG CAC GGA CTC CTA CGG GAG GCA GCA G 3') e UN518R (5' ATT ACC GCG GCT GCT GG 3') 236pb. (OVREÅS *et al.*, 1997).

A amplificação foi feita em solução tampão 1X para Taq DNA polimerase contendo 0,2 mmol L⁻¹ dNTPs, 3mmol L⁻¹ MgCl₂, 1 U de Taq DNA polimerase (Life Technologies, São Paulo, Brasil), 1,5mmol L⁻¹ dos primers e 10 ng do DNA total, com volume final de 25µL. As condições de amplificação foram de 5 min. a 95 °C; 30 ciclos de 1 min. a 95 °C, 1 min. a 55 °C e 1 min. a 72 °C; e extensão final por 10 min. a 72 °C em um termociclador Mastercycler Personal (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha).

A comunidade de fungos foi avaliada a partir da amplificação, por *nested* PCR, da região ITS, primariamente com os iniciadores ITS1-F-GC (5' TTC CGT AGG TGA ACC TGC GG 3') e ITS4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3'), 700pb. (Invitrogen Technologies made in Brazil) (WHITE *et al.*, 1990). A reação da amplificação foi feita nas mesmas condições que para bactérias descritas acima (exceto para o volume final de 10µL). As condições de amplificação no termociclador foram 5 min. a 94 °C; 35 ciclos de 1 min. a 94 °C, 1 min. a 50 °C e 1 min. a 72 °C; e extensão final por 10 min. a 72 °C.

Para a segunda reação de PCR foram utilizados 1,5 mmol L⁻¹ dos iniciadores ITS1-F-GC e ITS2R (5' GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC 3') 400pb. (WHITE *et al.*, 1990). A reação foi realizada em solução tampão 1X para Taq DNA polimerase contendo 0,2 mmol L⁻¹ de dNTPs, 1,5 mmol L⁻¹ de MgCl₂, 1 U de Taq DNA polimerase (Life Technologies, São Paulo, Brasil), 1µL do produto da primeira amplificação, com um volume final de 25µL. As condições de amplificação da PCR foram 5 min. a 94 °C; 35 ciclos de 30s a 94 °C, 30s a 55°C e 30s a 72 °C; e extensão final por 10 min. a 72 °C. As amplificações de fungos também ocorreram no termociclador descrito anteriormente.

O produto das amplificações das regiões 16S e ITS foi verificado em gel de eletroforese horizontal com 1 % de agarose, utilizando-se tampão

TAE 1X (Tris-Acetato-EDTA), depois de corado com “Sybr Green” (Life Technologies, São Paulo, Brasil), e a aquisição das imagens dos géis feita no transiluminador acima descrito para verificar a integridade do DNA extraído.

Os produtos amplificados de bactérias e fungos totais foram analisados através de eletroforese em gel com 8 % (m/v) de acrilamida:bisacrilamida (37,5: 1, m:m), contendo um gradiente de 15 a 75 % de formamida e ureia (OVREÅS *et al.*, 1997). A eletroforese foi realizada a 200 V e 60 °C constantes, por 3h e 10 min. utilizando-se um sistema “DCode” (BioRad, Hercules, CA, USA), e tampão TAE 1X. O DNA foi corado com Sybr Green (Life Technologies, São Paulo, Brasil) e a aquisição das imagens dos géis feita em fotodocumentador ChemiDoc MP (Bio-Rad, California, USA).

5.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Na análise quantitativa, os dados obtidos de MSPA, MSR, pH do solo e do N, e P acumulados na MSPA, foram submetidos à análise de ANOVA e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p < 0.05$), utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 ® (FERREIRA, 2011).

Sendo os dados de MSR antes da submissão à análise de variância normalizados na transformação $(x+0,5)^{1/2}$. Para a respiração basal (RB) os resultados foram expressos em gráfico contendo os valores médios de emissão de CO₂ em $\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2$ na data de cada leitura em cada tratamento com seu respectivo erro-padrão da média.

Os perfis de bandas das estruturas das comunidades bacterianas e fúngicas foram avaliados com o programa *Gel Compar II* “Bio Numerics 6,5” (Applied Maths), a partir da análise de agrupamento hierárquico utilizando-se o índice de Jaccard e o modelo de agrupamento por UPGMA. Os perfis de bandas também foram comparados em um espaço de ordenação em escala multidimensional não-métrica (NMDS), através do programa PAST v. 3.1 (HAMMER *et al.*, 2013), utilizando o coeficiente de similaridade de Bray-Curtis para avaliar a distância entre as amostras, comparando as distâncias com as respectivas (di) similaridades.

A relação entre essas duas medidas foi avaliada por regressão linear, sendo a confiabilidade da regressão representada pelo “stress”, e este interpretado de acordo com Kruskal, (1964b). Utilizando o PAST e o coeficiente de Jaccard, para discriminar os grupos foram testadas as diferenças entre o valor médio de similaridade entre as amostras (*rank*) dentro dos grupos e entre os grupos, a partir da análise de similaridade

(ANOSIM), a qual calcula um valor R com base na comparação dos grupos, sendo o R recalculado com base em permutações, permitindo determinar diferenças estatísticas entre os perfis de bandas. Os resultados foram interpretados segundo Clarke, (1993).

6. RESULTADOS

6.1. MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA (MSPA) E DA RAIZ (MSR), E QUANTIDADES ACUMULADAS DE NITROGÊNIO (N) E FÓSFORO (P).

A MSPA das plantas de cobertura apresentou diferenças significativas, entre presença de biocarvão (+B) e ausência do biocarvão (-B). A MSPA foi significativamente influenciada pela adição de biocarvão em todas as plantas de cobertura testadas. A adição de biocarvão aumentou em: 44; 200; 85 e 220% a MSPA da braquiária-Bra; calopogônio-Cal; milheto-Mil e consórcio-Mix respectivamente. Os maiores valores de MSPA são observados no Mil seguidos do Mix e Bra na +B e no Mil seguidos de Bra e Mix na -B.

Independentemente da adição de biocarvão ao solo, o milheto também apresentou a maior proporção de MSPA em relação às demais plantas de cobertura presentes no consórcio. Na presença do biocarvão o Mil contribuiu com 95% do valor total da massa seguidos da Bra com 4% e do Cal com 1%. Já na ausência do biocarvão o Mil contribuiu com 86% seguidos da Bra 12% e do Cal 2% (Figura 5 a). A MSR apresentou diferenças significativas para o tratamento +B dentro das plantas de cobertura do solo, apenas para a variável Cal (31%). As demais plantas na +B e -B não apresentaram diferenças estatísticas (Figura 5 b).

A quantidade de N acumulado na MSPA das plantas de cobertura demonstrou efeitos significativos do tratamento com biocarvão. A adição de biocarvão ao solo incrementou o aumento no acúmulo de N nas plantas de cobertura: Bra; Cal; Mil e Mix 62; 302; 123 e 241% (respectivamente). Já entre as plantas de cobertura e -B, apenas a Bra e o Mil não variaram estatisticamente entre si.

Nas plantas de cobertura os maiores valores de N são observados no Mil, seguidos da Bra e Mix (tanto para +B quanto para -B). No consórcio, o Mil também apresentou os maiores percentuais de colaboração no acúmulo de N em relação às demais plantas de cobertura, na +B o Mil contribuiu com 89%, seguidos da Bra 8% e o Cal 3%, enquanto na -B o Mil teve a contribuição de 82% a Bra 11% e o Cal 7% (Figura 5 c).

Enquanto isso, a quantidade de P acumulado na MSPA apresentou variação significativa para +B nos tratamentos biocarvão. O biocarvão adicionado ao solo aumentou o acúmulo de P na MSPA das plantas de cobertura: Bra; Cal; Mil e Mix 36%; 91%; 18% e 77% (respectivamente). Nas plantas de cobertura os maiores valores de P foram encontrados no Mil

e Mix, seguidos da Bra, e no Mil seguidos de Bra e Mix (na +B e -B respectivamente). Entretanto, não ocorreram diferenças entre as plantas: Mil e Mix na +B, e Bra e Mix na -B.

No tratamento Mix, o Mil também foi à planta que contribuiu com a maior quantidade de P acumulado. Os percentuais de contribuição de cada planta foram: Mil 90%; Bra 9% e Cal 1%, na +B, e Mil 84%; Bra 13% e Cal 3% na-B. O milho foi à planta que mais contribuiu para absorção dos nutrientes N e P no tratamento Mix, comportamento este, que pode também estar relacionado com a maior produção de biomassa desta planta de cobertura em relação às demais no presente experimento (figura 5 d).

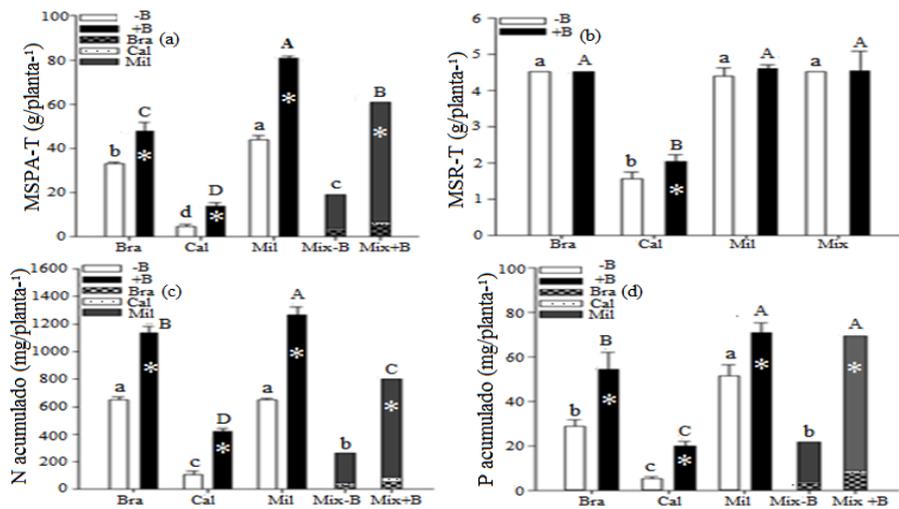


Figura 5 – Matéria seca da parte aérea - MSPA (a) e radicular - MSR (b) e quantidades acumuladas de nitrogênio - N (c) e fósforo - P (d) das plantas de cobertura: Bra-braquiária; Cal-calopogônio; Mil-milho e Mix-consórcio das três espécies, em solo de área de mineração em recuperação com e sem aplicação de biocharvão. Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tratamentos de plantas de cobertura na ausência de biocharvão (-B), enquanto letras maiúsculas comparam os tratamentos de plantas de cobertura na presença de biocharvão (+B). Asterisco (*) representa o efeito significativo da aplicação de biocharvão pelo teste F. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

6.2 ANÁLISE DO pH E DA RESPIRAÇÃO BASAL (RB) DO SOLO

O pH do solo não foi significativamente influenciado pela presença de plantas de cobertura (Figura 6). Com exceção do tratamento Cal, a adição de biocarvão no tratamento controle e nos demais tratamentos contendo plantas de cobertura, promoveu uma elevação nos valores de pH do solo.

Nos tratamentos sem biocarvão a média do valor do pH diminuiu para 5,02, enquanto naqueles contendo biocarvão o valor médio do pH aumentou para 6,02. Em relação ao valor inicial de 5,7 ocorreram variações de: 11,9 e 5,6% (respectivamente) nos 60 dias de experimento.

A RB apresentou variação na atividade respiratória dentro de alguns tratamentos no decorrer do experimento, a variação consiste em um período inicial (do terceiro ao vigésimo dia) de baixa atividade, seguida de um aumento (até o trigésimo quinto dia) e uma tendência de retorno aos parâmetros iniciais no final do experimento. A maior atividade biológica ocorreu entorno do trigésimo quinto dia nos tratamentos Mil e Mix seguidos de Bra na presença de biocarvão. Os demais tratamentos na -B e +B apresentaram parâmetros estáveis ou com variações menores (Figura 7).

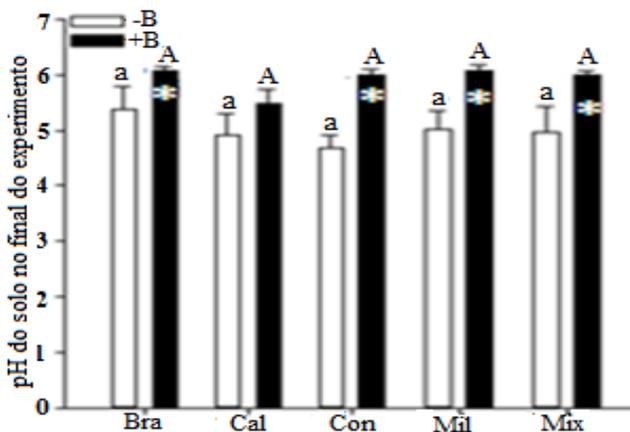


Figura 6 – Unidades de pH do solo na presença de plantas de cobertura: Bra-braquiária; Cal-calopogônio; Mil-milheto e Mix-consórcio das três espécies e Con-tratamento controle, em solo de área de mineração de carvão em recuperação. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam os tratamentos de plantas na ausência de biocarvão (-B), enquanto as letras maiúsculas comparam tratamentos de plantas de cobertura na presença de biocarvão (+B). Asterisco (*) representa o efeito significativo da aplicação de biocarvão pelo teste F. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

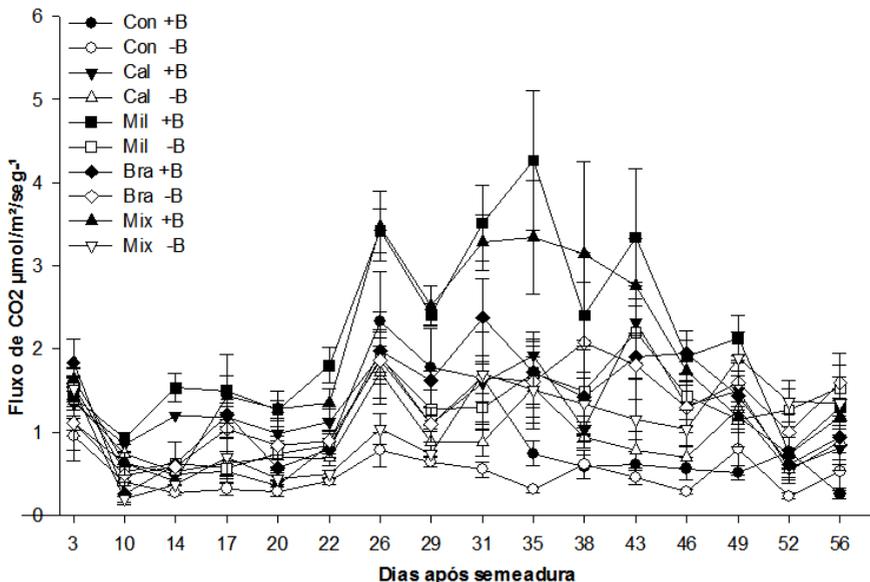


Figura 7 – Respiração basal do solo (RB) das plantas de cobertura: Bra-braquiária; Cal-calopogônio; Mil-milheto; Mix-consórcio das três espécies e Con-tratamento controle, em solo de área de mineração de carvão em recuperação na ausência de biocarvão (-B) e na presença de biocarvão (+B). Os números sob o eixo x referem-se às dezesseis leituras da RB e as suas respectivas datas.

6.3 ESTRUTURAS DAS COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO DE ÁREA DE MINERAÇÃO EM RECUPERAÇÃO.

6.3.1 Estrutura das comunidades bacterianas na presença de plantas de cobertura de solo e ausência de biocarvão (-B).

O agrupamento hierárquico das comunidades bacterianas do solo de área degradada pela mineração de carvão em recuperação mostra que, na presença de plantas de cobertura e -B, as amostras não agruparam por tratamento (Bra, Cal, Con, Mil e Mix) e estes não diferiram entre si (Figura 8). Assim nos tratamentos a estrutura das comunidades bacterianas apresentou-se bastante heterogênea, sem padrão de distribuição e com elevada amplitude de dissimilaridade interna das amostras do Con (3 a 56%) e Mix (3 a 67%) e Mil (20 a 62%) em relação às demais. As maiores similaridades ocorreram entre as duas amostras agrupadas: do Con (44%) e, do Mil (40%). Entre os tratamentos a maioria das amostras formou grupos aleatórios de 4, 18, 20, 30, 36, 40, 44,50 e 55% de similaridades.

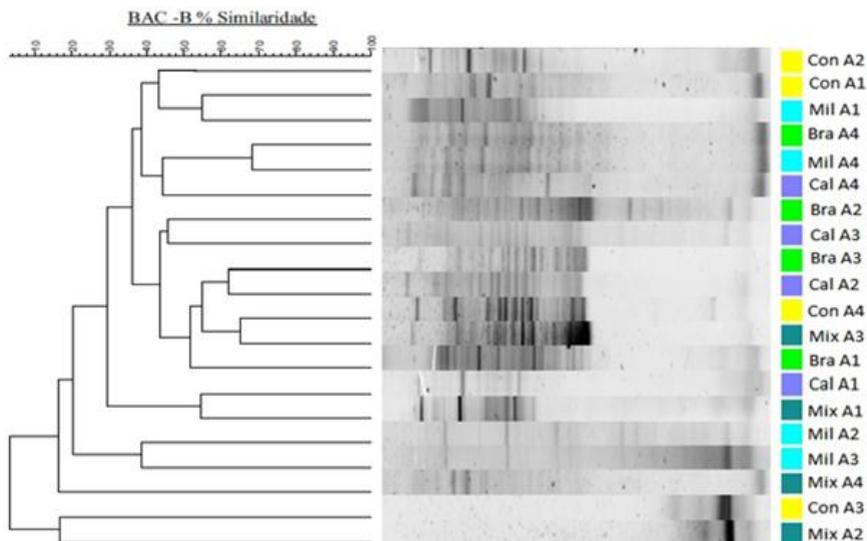


Figura 8 - Agrupamento hierárquico baseado nos perfis de bandas do gene rRNA 16S de Bactérias das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) obtido a partir do coeficiente de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA: Bra (braquiária); Cal (calopogônio); Mil (milheto); Mix (consórcio) e con (controle) referem-se às amostras do solo aderido às raízes (das plantas de cobertura) e controle respectivamente. Os números antecedidos da letra A representam as repetições dentro de cada tratamento.

Assim como no agrupamento hierárquico, pode-se observar no mapa similar aos dados da MDS (Figura 9), estruturas de comunidades bacterianas heterogêneas e pouco distintas entre os tratamentos. Entretanto, dado a variação da amplitude de similaridade e a posição bidimensional de suas amostras nas coordenadas (Mix, Con, Mil e Cal), os tratamentos apresentaram dissimilaridades entre si.

Tal fato foi comprovado pela análise de ANOSIM (Tabela 3) que apesar do baixo valor de R global (0,1168), o qual indica baixa dissimilaridade entre as amostras, quando realizado o teste *pairwise*, nota-se, dissimilaridades significativas entre as amostras dos tratamentos: Con e Mix (R=0,9106), Con e Bra (R=0,8878), Con e Mil (R=0,8056), Cal e Mil (R=0,9428) e Cal e mix (R=0,7479) (grupos altamente distintos); Cal e Bra (R=0,5718) (grupos diferentes); Mix e Bra (R=0,4552), Mix e Mil (R=0,4331) e Con e Cal (R=0,4212) (grupos com sobreposições moderadas) e ainda Mil e Bra (R=0,267) significativamente, com elevada sobreposições.

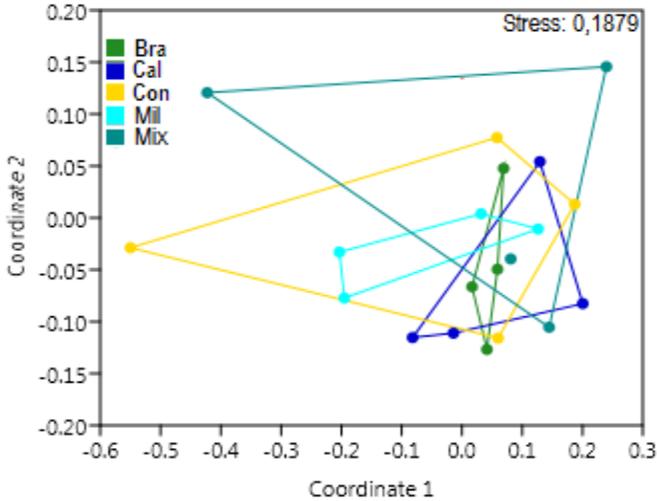


Figura 9 – Análise de MDS baseada nos perfis de bandas do gene rRNA 16S de Bactérias das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) utilizando o coeficiente Bray-Curtis: Bra-braquiária (■); Cal-calopogônio (■); Mil-milheto (■); Mix-consórcio (■) e con-controle (■) referem-se a amostras de solo aderido as raízes (das plantas e cobertura) e controle respectivamente.

Tabela 3 - Teste de ANOSIM baseado nos perfis de bandas da região v3 do gene rRNA 16S de bactérias do solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) utilizando o coeficiente de Jaccard

Tratamento	Teste de similaridade por <i>Pairwise</i>					
	Plantas	Bra	Cal	Con	Mil	Mix
Bra	-					
Cal	0,5718*	-				
Con	0,8878*	0,4212*	-			
Mil	0,2679*	0,9428*	0,8056*	-		
Mix	0,4552*	0,7479*	0,9106*	0,4331*	-	

(R global = 0,1168; P<0,06). ¹Valores de R *Pairwise*; * valor de P< 0.05.

6.3.2. Estrutura das comunidades bacterianas na presença de plantas de cobertura de solo e de biocarvão (+B).

A estrutura hierárquica das comunidades bacterianas do solo de área degradada pela mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e +B, não demonstrou agrupamento das amostras por tratamentos. As amostras dos tratamentos Mix, Con e Mil apresentaram variações de 3 a 58%, 3 a 62%, 20 a 60% de similaridades em relação aos demais (Figura 10).

A estrutura das comunidades bacterianas apresentou-se heterogênea com uma maior tendência de agrupamento da Bra, Cal, e Mil em relação à análise -B e as amostras agrupadas da Bra (66%) e do Mil (50%) apresentaram as maiores similaridades. Entre tratamentos ocorreu a formação de grupos com 3, 18 e 20% de similaridades e de um grande grupo com 39%, o qual inclui subgrupos com 41, 43, 49 e 51% de similaridades, demonstrando certa homogeneidade das bandas dentro deste grande grupo.

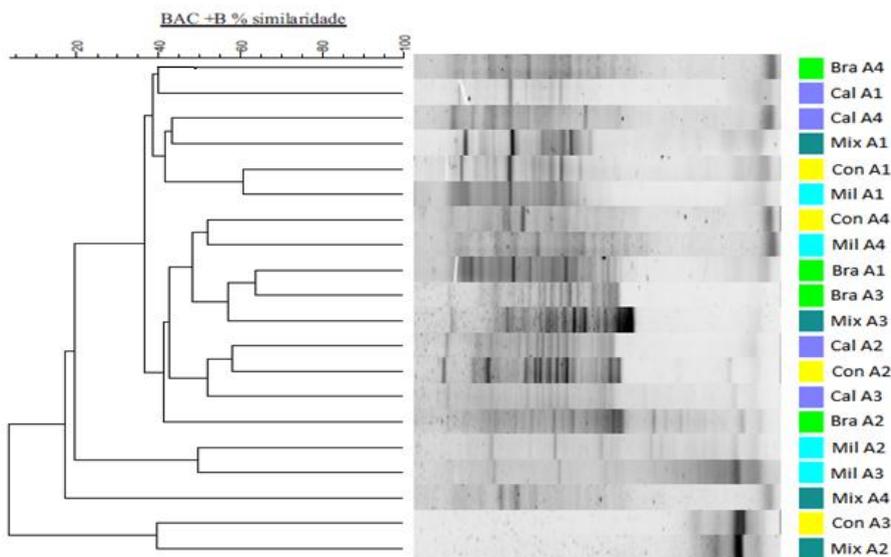


Figura 10 - Agrupamento hierárquico baseado nos perfis de bandas do gene rRNA 16S de Bactérias das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e presença de biocarvão (+B) obtido a partir do coeficiente de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA: Bra (braquiária); Cal (calopogônio); Mil (milheto); Mix (consórcio) e con (controle) referem-se às amostras do solo aderido as raízes (das plantas de cobertura) e do

tratamento controle respectivamente. Os números antecidos da letra A representam as repetições dentro de cada tratamento.

Assim como ocorreu no agrupamento hierárquico, pode-se observar na distribuição espacial dos dados pela MDS (Figura 11), estruturas de comunidades bacterianas heterogêneas e com algum grau de sobreposição entre os tratamentos. Mesmo assim, pela variação da amplitude de similaridades (Mix, Con, Mil e Cal), os tratamentos apresentaram dissimilaridades entre si.

A inexistência de agrupamento das amostras dos tratamentos na estrutura hierárquica refletiu em um valor de R global baixo (0,1542) na análise ANOSIM (Tabela 4). No entanto, quando realizada a comparação par a par (teste *pairwise*), dissimilaridade significativa é observada entre os tratamentos: Con e Mix (R=0,9751) e Con e Cal (R=0,9433) (grupos elevadamente distintos); Mil e Mix (R=0,6539), Con e Bra (R=0,6264) e Con e Mil (R=0,5979) (grupos diferentes); Cal e Mil (R=0,3705) e Cal e Mix (R=0,3696) (grupos com sobreposições moderada) e Mix e Bra (R=0,2603) significativos, com elevadas sobreposições.

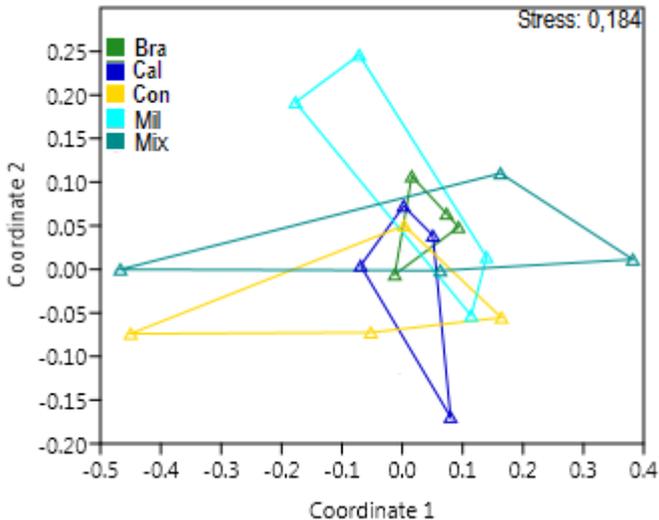


Figura 11 – Análise de MDS baseada nos perfis de bandas do gene rRNA 16S de Bactérias das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e de biocarvão (+B) utilizando o coeficiente Bray-Curtis: Bra-braquiária (■); Cal-calopogônio (■); Mi-milheto (■); Mix-consórcio (■) e con-controle (■) referem-se a amostras de solo aderido as raízes (das plantas de cobertura) e controle respectivamente.

Tabela 4 - Teste de ANOSIM baseado nos perfis de bandas da região v3 do gene rRNA 16S de bactérias de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e de biocarvão (+B) utilizando o coeficiente de Jaccard

Tratamento	Teste de similaridade por <i>Pairwise</i>					
	Plantas	Bra	Cal	Con	Mil	Mix
Bra		-				
Cal		0,1455	-			
Con		0,6264*	0,9433*	-		
Mil		0,1427	0,3705*	0,5979*	-	
Mix		0,2603*	0,3696*	0,9751*	0,6539*	-

(R global = 0,1542; P<0,02). ¹Valores de R *Pairwise*; * valor de P< 0.05.

6.3.3. Estrutura das comunidades bacterianas na presença de plantas de cobertura de solo e ausência e presença de biocarvão (-B e +B) respectivamente.

A análise comparativa entre as estruturas das comunidades bacterianas de solo de área degradada pela mineração de carvão em recuperação na -B e +B nos tratamentos: Bra; Cal; Con; Mil e Mix, não apresentou um padrão de agrupamento por tratamento/planta (Figura12). Mesmo assim, ocorreram tendências de agrupamentos internos comuns para -B e +B nos perfis de bandas do Mil, Bra e mix.

Entre os tratamentos, formaram-se grupos comuns com 5, 10, 11, 15, 17 e 21% de similaridades e um grande agrupamento com 23%, contendo em si dois grupos com propriedades similares de 24 e 26% e estes ainda contendo subgrupos com similaridades mais elevadas. Entretanto, a estrutura das comunidades da maioria das amostras (independente do tratamento/planta) formou vários agrupamentos isolados tanto para -B quanto para +B, além de tendência a um agrupamento interno comum entre -B e +B nos tratamentos Bra e Cal.

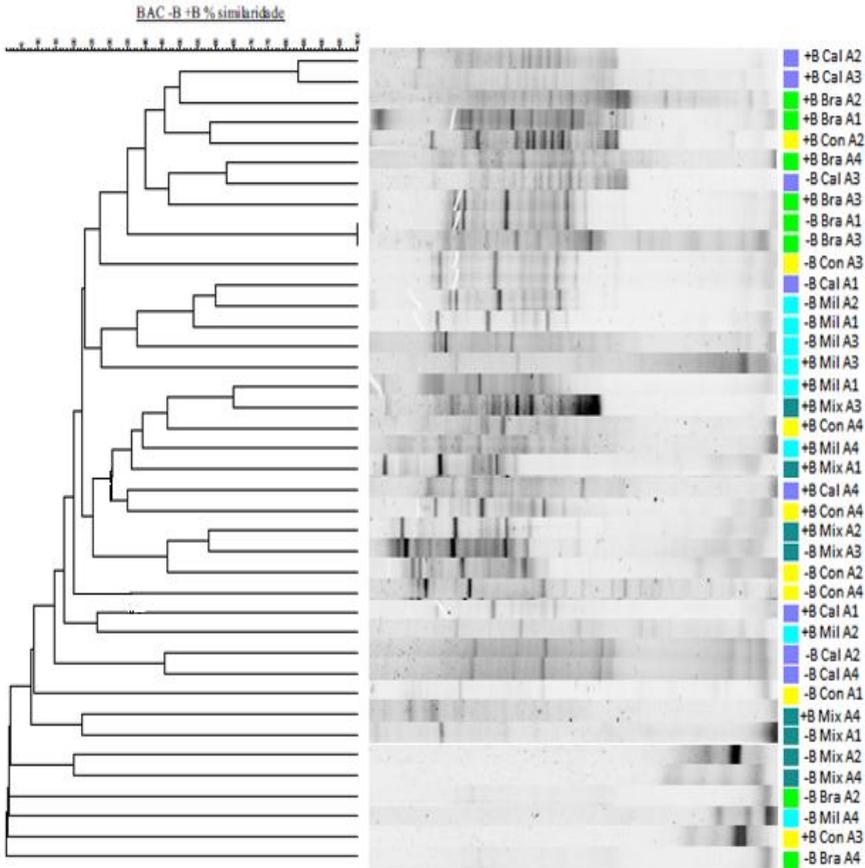


Figura 12 - Agrupamento hierárquico baseado nos perfis de bandas do gene rRNA 16S de Bactérias das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e na ausência de biocarvão (-B) e presença de biocarvão (+B) obtido a partir do coeficiente de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA: -B Bra (braquiária); -B Cal (calopogônio); -B Mil (milheto); -B Mix (consórcio) e -B con (controle). +B Bra (braquiária); +B Cal (calopogônio); +B Mil (milheto); +B Mix (consórcio) e +B con (controle), referem-se às amostras do solo aderido às raízes (das plantas de cobertura) e do controle na ausência e presença de Biocarvão respectivamente. Os números antecedidos da letra A representam as repetições dentro de cada tratamento.

Na análise de distância espacial pela MDS (Figura 13), apesar de um Stress fraco (0,3171), tal como ocorreu no agrupamento hierárquico, observa-se tendências à formação de grupos distintos e isolados tanto para o tratamento +B quanto para o -B.

Apesar da ausência de agrupamento definido para os tratamentos amostrados ser confirmado na análise de ANOSIM (Tabela 5) pelo baixo valor do R global ($R=0,2275$), o qual indica uma baixa dissimilaridade entre as amostras. Pode-se observar por meio do teste *pairwise* dissimilaridades significativas, entre os tratamentos: Bra -B e Bra +B ($R=0,208$), Cal -B e Cal +B ($R=0,200$), Cal -B e Mil +B ($R=0,222$), Bra -B e Con +B ($R=0,200$) e Mil -B e Mix +B ($R=0,260$) (grupos significativos com elevadas sobreposições); Con -B e Con +B ($R=0,419$), Bra -B e Cal +B ($R=0,435$), Cal -B e Con +B ($R=0,312$), Con -B e Mix +B ($R=0,482$), Mil -B e Con +B ($R=0,436$) e Mix -B e Con +B ($R=0,315$) (grupos com sobreposições ou dissimilaridades moderada); Mil -B e Mil +B ($R=0,500$) (grupos diferentes); Mix -B e Mix +B ($R=0,975$), Mix -B e Mi +B ($R=0,802$), Con -B e Mil +B ($R=0,883$) (grupos altamente distintos).

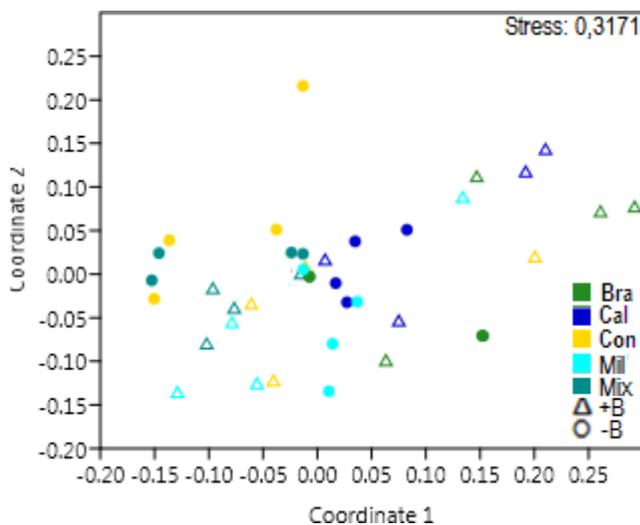


Figura 13 – Análise de MDS baseada nos perfis de bandas do gene rRNA 16S de Bactérias das amostras de solo de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) e presença de biocarvão (+B) utilizando o coeficiente Bray-Curtis: Bra-braquiária (■); Cal-calopogônio (■); Mil-milheto (■); Mix-consórcio (■) e con-controle (■) referem-se a amostras de solo aderido as raízes (das plantas de cobertura) e controle respectivamente. O ▲ e o ○ indicam a presença e ausência de biocarvão nas respectivas amostras.

Tabela 5 - Teste de ANOSIM baseado nos perfis de bandas da região v3 do gene rRNA 16S de bactérias de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e na ausência de biocarvão (-B) e presença de biocarvão (+B) utilizando o coeficiente de Jaccard

Tratamento	Teste de similaridade por <i>Pairwise</i>				
	Bra +	Cal +	Con +	Mil +	Mix +
Bra -	0,208*	0,435*	0,200*	0,116	0,166
Cal -	0,171	0,200*	0,312*	0,222*	0,083
Con -	0,031	0,030	0,419*	0,883*	0,482*
Mil -	0,029	0,119	0,436*	0,500*	0,260*
Mix -	0,057	0,060	0,315*	0,802*	0,975*

(R global = 0,2275; P<0,0001). ¹Valores de R *Pairwise*; * valor de P< 0.05.

6.3.4. Estrutura das comunidades fúngicas na presença de plantas de cobertura de solo e ausência de biocarvão (-B)

No agrupamento hierárquico da estrutura das comunidades fúngicas do solo de área degradada pela mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e -B, não é possível observar agrupamento das amostras por tratamento (Bra, Cal, Con, Mil e Mix) e, estes não diferem entre si (Figura 14). Mesmo com amostras distintas tendências de agrupamento são observadas no Mix (75%) e na Bra e Con (50%). As amostras entre tratamentos variam de 7 a 52% de similaridades, formando dois grupos com 12% de semelhança, cada um constando em sua formação três outros grupos com similaridades que variaram de 18 a 23%.

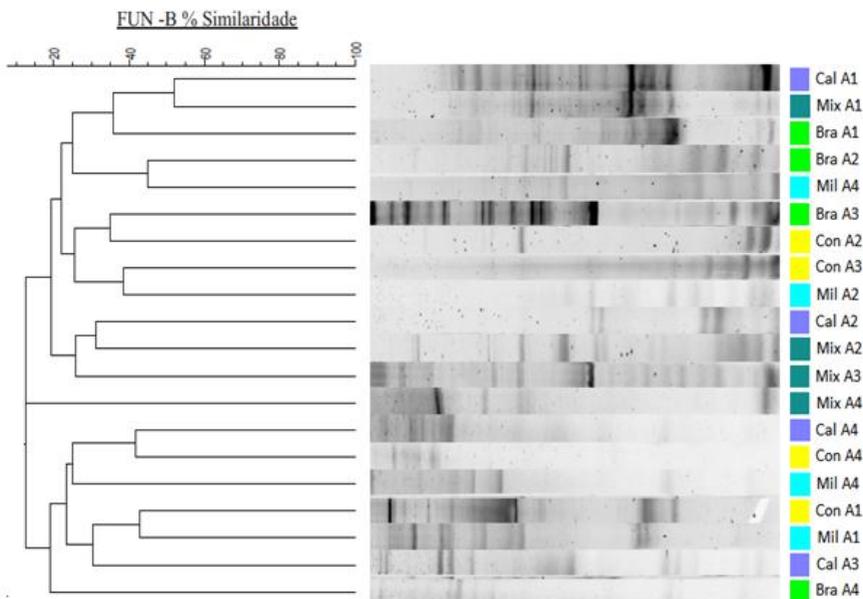


Figura 14 - Agrupamento hierárquico baseado nos perfis de bandas da região ITS de fungos das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) obtido a partir do coeficiente de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA: Bra (braquiária); Cal (calopogônio); Mil (milheto); Mix (consórcio) e con (controle) referem-se às amostras dos solos aderidos às raízes (das plantas de cobertura) e controle respectivamente. Os números antecedidos da letra A representam as repetições dentro de cada tratamento.

Assim como no agrupamento hierárquico, pode-se observar pela MDS (Figura 15) estruturas de comunidades fúngicas heterogêneas e, com amostras dispersas na distribuição espacial dos tratamentos, bem como uma maior similaridade entre as amostras do Mix e do Bra.

Considerando a análise de ANOSIM (Tabela 6), o valor do R global (0,3) sugere uma dissimilaridade moderada entre os tratamentos. Quando realizada a comparação par a par (teste *pairwise*) dissimilaridades são observadas entre os tratamentos: Con e Bra ($R=0,4025$), Mil e Bra ($R=0,4906$), Mix e Cal ($R=0,428$), Mil e Cal ($R=0,457$) e Mix e Mil ($R=0,3091$) (grupos com sobreposições moderadas); Mix e Bra ($R=0,6596$) e Mil e Con ($R=0,6808$) (grupos diferentes); Cal e Bra ($R=0,8015$) (grupos altamente distintos) e Con e Cal ($R=2507$) grupos altamente sobrepostos.

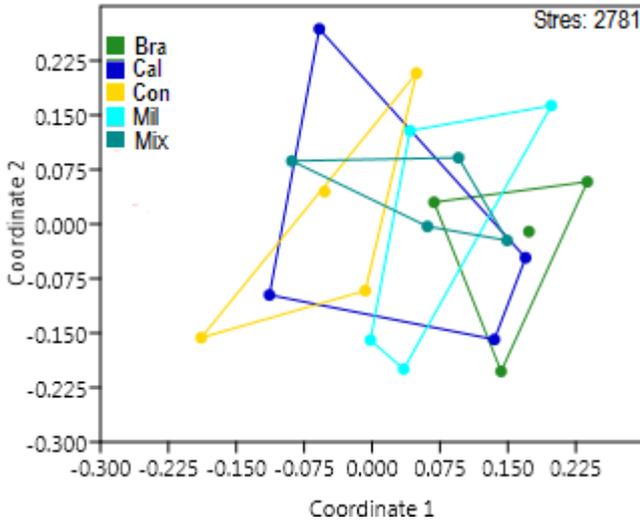


Figura 15 – Análise de MDS baseada nos perfis de bandas da região ITS de Fungos das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) utilizando o coeficiente Bray-Curtis: Bra-braquiária (■); Cal-calopogônio (■); Mil-milheto (■); Mix-consórcio (■) e con-controle (■) referem-se a amostras de solo rizosférico (das plantas de cobertura) e controle respectivamente.

Tabela 6 - Teste de ANOSIM baseado nos perfis de bandas da região ITS de fungos do solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) utilizando o coeficiente de Jaccard

Tratamento	Teste de similaridade por <i>Pairwise</i>				
	Bra	Cal	Con	Mil	Mix
Bra	-				
Cal	0,8015*	-			
Con	0,4025*	0,2597*	-		
Mil	0,4906*	0,457*	0,6808*	-	
Mix	0,6596*	0,428*	0,1697	0,3091*	-

R global = 0,3; P<0,003). ¹Valores de R *Pairwise*; * valor de P< 0.05.

6.3.5. Estrutura das comunidades fúngicas na presença de plantas de cobertura de solo e de biocarvão (+B)

A estrutura hierárquica das comunidades fúngicas do solo de área degradada pela mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e +B, não demonstrou agrupamento das amostras por tratamento.

No Bra 75% das suas amostras agruparam com 52% de similaridades e o Mix com similaridades internas variando de 13 a 71% apresentou tendência de agrupamento por tratamento (Figura 16). A estrutura das comunidades apresentou-se heterogênea, entre os tratamentos as amostras variaram de 12 a 100% de similaridade, formando dois grupos com 12% de semelhança, um representado por uma amostra do Cal e o outro pelas demais, as quais encontram-se agrupadas em três grandes subgrupos, com 13% e 16% de similaridades entre eles.

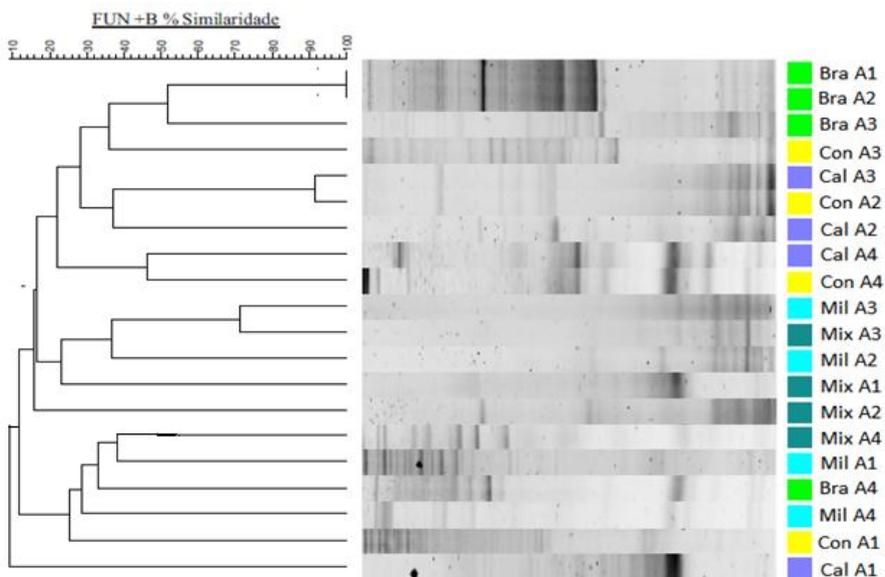


Figura 16 - Agrupamento hierárquico baseado nos perfis de bandas da região ITS de fungos das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e presença de biocarvão (+B) obtido a partir do coeficiente de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA: Bra (braquiária); Cal (calopôgônio); Mil (milheto); Mix (consórcio) e con (controle) referem-se às amostras dos solos aderidos as raízes (das plantas de cobertura) e controle respectivamente, e os números antecedidos da letra A representam as repetições dentro de cada tratamento.

Na análise de MDS (Figura 17) pode-se observar a presença de grupos sobrepostos e com disposições espaciais variadas entre as suas amostras e com o Mix apresentando a maior variação. Tal fato foi confirmado pela análise de ANOSIM (Tabela 7), com um baixo valor do R global ($R=0,2295$).

Ainda assim, pode-se observar no do teste *pairwise* dissimilaridades variadas: Mix e Mil ($R=0,9109$), Mix e Cal ($R=0,7994$) e Con e Bra ($R=0,7737$) (grupos altamente distintos); Cal e Bra ($R=0,6817$) e Mix e Bra ($R=0,5132$) (grupos diferentes); Mil e Bra ($R=0,4079$), Con e Cal ($R=0,3119$) e Con e Mil ($R=0,3136$) (dissimilaridade moderada) e Mil e Cal ($R=0,2501$) (grupos altamente sobrepostos).

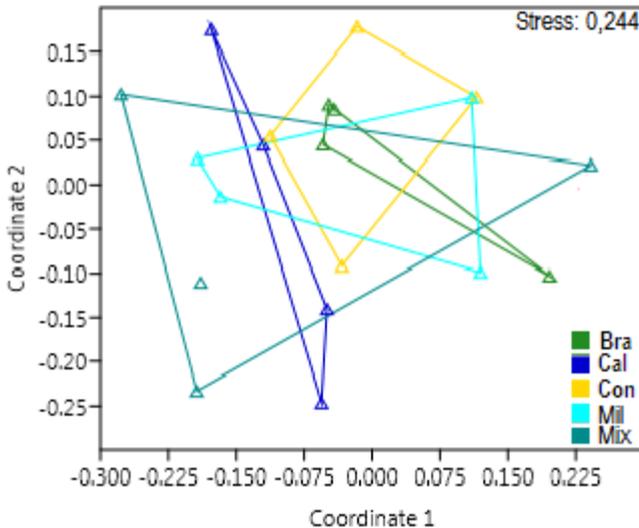


Figura 17 – Análise de MDS baseada nos perfis de bandas da região ITS de Fungos das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e de biocarvão (+B) utilizando o coeficiente Bray-Curtis: Bra-braquiária (■); Cal-calopogônio (■); Mil-milheto (■); Mix-consórcio (■) e controle (■) referem-se a amostras de solo aderido as raízes (das plantas de cobertura) e controle respectivamente.

Tabela 7 - Teste de ANOSIM baseado nos perfis de bandas da região ITS de fungos do solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e de Biocarvão (+B) utilizando o coeficiente de Jaccard

Tratamento	Teste de similaridade por <i>Pairwise</i>					
	Plantas	Bra	Cal	Con	Mil	Mix
Bra		-				
Cal		0,6817*	-			
Con		0,7737*	0,3119*	-		
Mil		0,4079*	0,2501*	0,3136*	-	
Mix		0,5132*	0,7994*	0,1777	0,9109*	-

(R global = 0,2295; P<0,018). ¹Valores de R *Pairwise*; * valor de < 0.05.

6.3.6. Estrutura das comunidades fúngicas na presença de plantas de cobertura de solo e na ausência e presença de biocarvão (-B e +B) respectivamente.

Na análise comparativa entre as estruturas das comunidades fúngicas -B e +B do solo de área degradada pela mineração de carvão em recuperação nos tratamentos: Bra; Cal; Con; Mil e Mix, observou-se condição similar à encontrada na estrutura das comunidades bacterianas, não ocorreu agrupamento por tratamento/planta, e estes não diferiram entre si.

Entretanto, percebe-se uma tendência de agrupamento em grupos distintos, nas amostras dos tratamentos Con, Bra e Mil, demonstrando a heterogeneidade da estrutura das comunidades mesmo dentro dos tratamentos (Figura 18).

Entre os tratamentos a similaridade das amostras variou de 2 a 100%, formando dois grupos com 2% de similaridade entre eles, um constituído por as amostras do Con (duas) e do Mix (uma) e o outro pelas demais. No maior grupo formado, vários subgrupos com 10, 12, 13, 15,16 e 18% de similaridade são observados. Em relação aos tratamentos -B e +B a estrutura das comunidades da maioria das amostras (independente do tratamento/planta) apresentaram vários agrupamentos isolados tanto para -B quanto para +B.

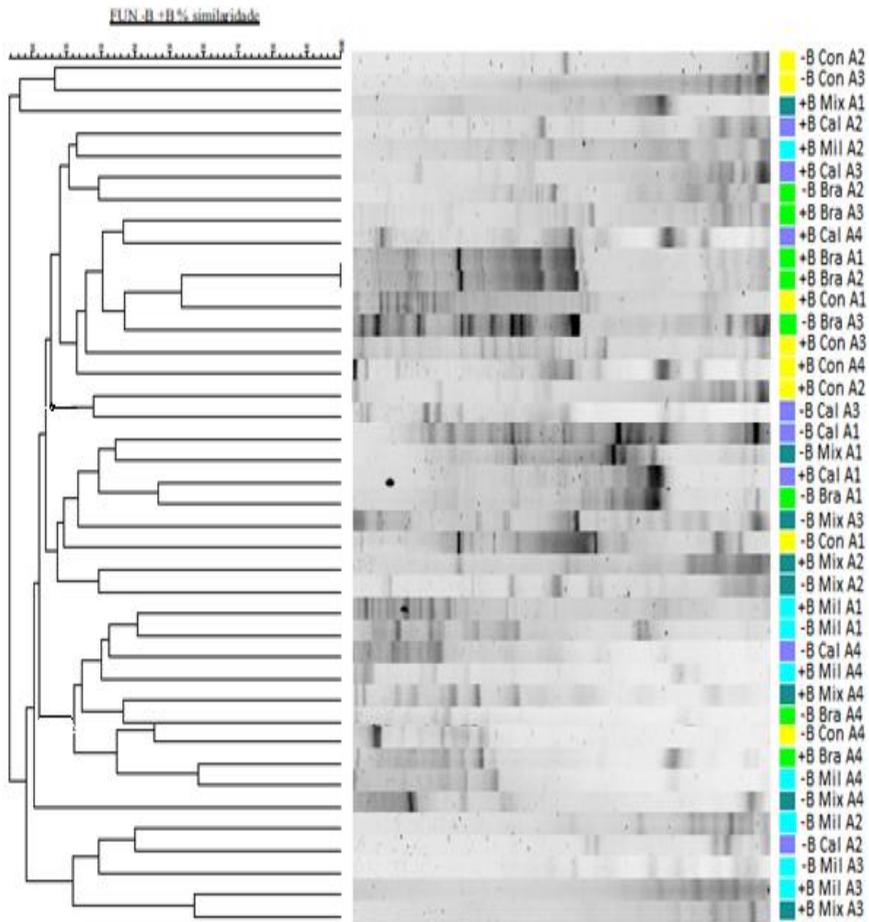


Figura 18 - Agrupamento hierárquico baseado nos perfis de bandas da região ITS de fungos das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e na ausência de biocarvão (-B) e presença de biocarvão (+B) obtido a partir do coeficiente de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA: -B Bra (braquiária); -B Cal (calopogônio); -B Mil (milheto); -B Mix (consórcio) e -B con (controle). +B Bra (braquiária); +B Cal (calopogônio); +B Mil (milheto); +B Mix (consórcio) e +B con (controle), referem-se às amostras do solo aderido as raízes (das plantas de cobertura) e do controle na ausência e presença de Biocarvão respectivamente. Os números antecidos da letra A representam as repetições dentro de cada tratamento.

Assim como no agrupamento hierárquico, na distribuição espacial da MDS (Figura 19) observa-se a tendência de formação de grupos distintos tanto para -B quanto para +B. Considerando a análise de ANOSIM (Tabela 8), o valor do R global (0,1843) nos mostra uma baixa dissimilaridade entre os tratamentos.

Quando realizada a comparação par a par (teste *pairwise*), são observadas dissimilaridades significativas entre os tratamentos: Bra -B e Bra +B (R=0,458), Cal -B e Bra +B (R=0,487), Mil -B e Bra +B (R=0,373), Con -B e Cal +B (R=0,466), Mil -B e Cal +B (R=0,435), Cal -B e Mil +B (R=0,494) e Cal -B e Mix +B (R=0,423) (grupos com sobreposições moderadas); Bra -B e Cal +B (R=0,747), Cal -B e Cal +B (R=0,770), Mil -B e Mil +B (R=0,717), Bra -B e Mix +B (R=0,889) (grupos altamente distintos); Bra -B e Con +B (R=0,662), Cal -B e Con +B (R=0,521), Mil -B e Con +B (R=0,632), Bra -B e Mil +B (0,658), Con -B e Mix +B (R=0,569) e Mix -B e Mix +B (R=0,570) (grupos diferentes); Mix -B e Cal +B (R=0,250) e Mil -B e Mil +B (R=0,227) (grupos significativos com elevada sobreposição) e Con -B e Con +B (R=0,154 grupos significativos indistinguíveis).

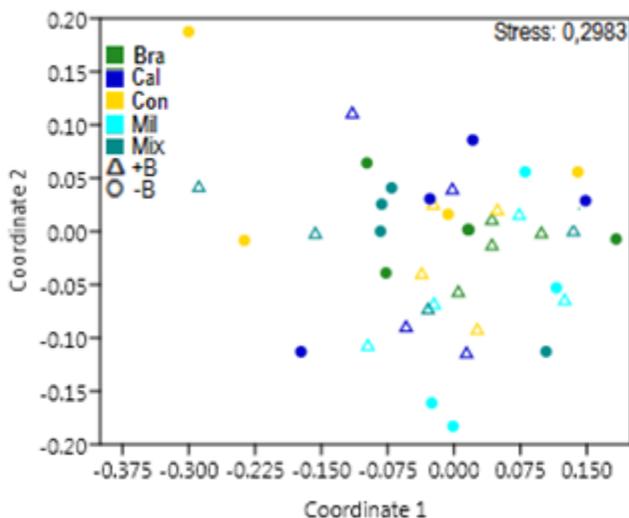


Figura 19 – Análise de MDS baseada nos perfis de bandas da região ITS de Fungos das amostras de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e ausência de biocarvão (-B) e presença de biocarvão(+B) utilizando o coeficiente Bray-Curtis: Bra-braquiária (■); Cal-calopogônio (■); Mil-milheto (■); Mix-consórcio (■) e con-controle (■) referem-se a amostras de solo aderido as raízes (das plantas de cobertura) e controle respectivamente. O △ e ○ indicam a presença e ausência de biocarvão nas respectivas amostras.

Tabela 8 - Teste de ANOSIM baseado nos perfis de bandas da região ITS de fungos de solo de área de mineração de carvão em recuperação na presença de plantas de cobertura e na ausência de biocarvão (-B) e presença de biocarvão (+B) utilizando o coeficiente de Jaccard

Tratamento Plantas	Teste de similaridade por <i>Pairwise</i>				
	Bra+	Cal +	Con +	Mil +	Mix +
Bra -	0,458*	0,747*	0,662*	0,658*	0,889*
Cal -	0,487*	0,770*	0,521*	0,494*	0,423*
Con -	0,089	0,466*	0,154	0,088	0,569*
Mil -	0,373*	0,435*	0,632*	0,717*	0,227*
Mix -	0.091	0.250*	0.029	0.143	0.570*

(R global = 0,1843; P<0,002). ¹Valores de R *Pairwise*; * valor de P< 0.05.

Na tabela 9 é possível verificar que o número de bandas entre as comunidades microbianas avaliadas não apresentou oscilações marcantes dentro do tratamento plantas e entre plantas e biocarvão. Entretanto, no tratamento biocarvão exceto para o Mix (em fungos), verifica-se uma maior quantidade de bandas para +B em relação a -B nas comunidades bacterianas e fúngicas.

Tabela 9 – Número total de bandas obtido a partir da análise de DGGE das comunidades de bactérias (região v3 16S) e fungos (região ITS) de amostras do solo de área de mineração de carvão em recuperação, representadas pelos tratamentos: Braquiária; Calopogônio; Milheto; Mix e Controle na presença de biocarvão (+B) e na ausência de biocarvão (-B), 60 dias após a semeadura. O * indica um maior número de bandas para +B em relação a -B dentro de cada tratamento para os grupos de bactérias e fungos

Solo	Bandas Bactérias		Bandas Fungos	
	+B	-B	+B	-B
Tratamentos				
Braquiária	59*	33	63*	41
Calopogônio	55*	44	47*	42
Milheto	53*	39	38*	31
Mix	34*	30	27	37*
Controle	43	58*	49*	28
Total	257	222	235	186

7. DISCUSSÃO

7.1. EFEITO DO BIORCARVÃO SOBRE O CRESCIMENTO VEGETAL E ATRIBUTOS DO SOLO.

O sucesso na adoção de projetos de recuperação de áreas degradadas depende da composição, origem e profundidade dos solos que são empregados no processo de recomposição das áreas. Tais solos são denominados de solos de área de empréstimo, os quais são submetidos a intenso processo de desestruturação e inversão dos seus horizontes ocasionados pelos processos de escavação, carregamento e transporte final.

Todos esses processos ocasionam profundas alterações nas condições físicas, químicas e biológicas que dificultam o estabelecimento da vegetação e o sucesso do processo de revegetação (DIAS & MELO 1998; NICOLEITE *et al.*, 2013). Especificamente na Bacia Carbonífera de Santa Catarina, há a necessidade de forte intervenção antrópica para obtenção de características edáficas satisfatórias para se atingir condição favorável ao desenvolvimento das plantas (SILVA, 2016).

No presente trabalho avaliaram-se os efeitos da aplicação do biocarvão sobre o crescimento de diferentes espécies herbáceas em solo de área de empréstimo empregado em projeto de recuperação de áreas impactadas pela mineração de carvão na Bacia Carbonífera de Santa Catarina. Dentre as espécies testadas verificou-se que o biocarvão beneficiou de modo mais expressivo a produção de MSPA no milheto (Mil) tanto na cultura solteira quanto na consorciada, enquanto que para Braquiária (Bra) e o Calopogônio (Cal) houve menor contribuição do biocarvão.

Os resultados obtidos evidenciam o efeito benéfico do biocarvão sobre o crescimento das plantas especialmente sobre o Mil. Este efeito pode estar se refletindo nas demais variáveis do desenvolvimento vegetal, uma vez que o crescimento e o incremento de biomassa aérea dependem da fotossíntese líquida (TAIZ & ZEIGER, 2004). Além disso, a aplicação de biocarvão pode beneficiar o crescimento vegetal pelo aumento na disponibilidade de nutrientes presentes no solo Xu *et al.*, 2017a.

Isto pode ocorrer pela capacidade que o biocarvão tem de em contato com o solo promover condições adequadas à proliferação de bactérias e fungos, que atuam na mineralização da matéria orgânica (LEHMANN & JOSEPH, 2009), de agir como um ímã, atraindo nutrientes que aumentam a fertilidade do solo, e favorecem o crescimento de diversas variedades de plantas (ANDRADE, 2015), ou pelo fornecimento de nutrientes inerentes

que compõem o próprio biocarvão tais como N, K e P que são essenciais ao crescimento vegetal (TRAZZI, 2014).

Perto de superfícies radiculares o biocarvão pode promover a reciclagem de frações de P lábil (LEHMANN & JOSEPH, 2009). Entretanto, em solo de área empréstimo a presença do biocarvão influencia em curto prazo o aumento e a disponibilidade de nutrientes como o P e o K (VENDRUSCOLO *et al.*, 2016).

Os benefícios do biocarvão para o crescimento vegetal estão relacionados com o papel condicionador que o mesmo exerce sobre os diferentes tipos de solos em que é inserido. Tal contribuição tem sido verificada em ambientes sob recuperação de paisagens desnudas e também em condições variadas de uso de solo e de graus de degradação (LEHMANN & JOSEPH, 2009).

Vários trabalhos, demonstrando os benefícios do biocarvão para o crescimento vegetal e corroborando com os resultados do presente estudo têm sido conduzidos, Zão *et al.*, (2015) ao investigarem o potencial de biocarvão de palha de arroz nas concentrações de 4,7 e 9 t ha⁻¹ em conjunto com uma mistura de N, P, K em quatro safras consecutivas de trigo (inverno) e arroz (verão) concluíram que, o biocarvão promoveu o crescimento das plantas, com aumentos na produção de palha e biomassa total.

Do mesmo modo em outro estudo a campo avaliando os efeitos do biocarvão obtido de resíduos de *Dalbergia sissoo* para a cultura de trigo, Handami *et al.*, (2017) concluíram que, a aplicação de 1% do biocarvão associado a taxas reduzidas de fertilizante inorgânicos, aumentou o crescimento das plantas em altura, comprimento da espiga e número de perfilhos.

Xu, *et al.*, 2017a utilizando biocarvão de videira em estudos de manutenção ecológica de solo contaminado com diversos metais, evidenciaram que o biocarvão beneficiou o crescimento da biomassa de arroz. Ao avaliar a influência do biocarvão derivado de resíduos de salgueiro (*Salix spp.*) aplicado conjuntamente com um composto de resíduo orgânico, Agegnehu *et al.*, (2015) verificaram que esse substrato aumentou a massa seca da raiz e a quantidade e o tamanho da vagens de amendoim (*Arachis hipogaea* L.) em relação ao tratamento contendo apenas fertilizante mineral.

Em outro trabalho, utilizando o mesmo biocarvão e em condições similares as descritas para 2015 Agegnehu *et al.*, (2016) concluíram que a produção total de biomassa da parte aérea foi significativamente melhorada nas plantas de milho. Corroborando os efeitos positivos do biocarvão em favor da MSPA e MSR do calopogônio do presente trabalho, Silva *et al.*, (2017a) ao avaliarem os efeitos do biocarvão de casca de arroz, serragem e

restos de silagem de sorgo sobre *Phaseolus vulgaris* L. descreveram que o biocarvão nas concentrações 2,5%, 5%, 7,5% v/v. aumentou a massa seca da parte aérea, massa seca radicular e a massa seca total.

Resultados de pesquisa também têm demonstrado o potencial do emprego do biocarvão na produção de mudas de espécies arbóreas tanto no âmbito da composição de substrato, quanto no estabelecimento das mudas em solos agrícolas, florestais e de áreas de empréstimo.

Nesses estudos, destacam-se os benefícios proporcionados pelo biocarvão na produção de biomassa total ou da parte aérea e das raízes de espécies arbóreas como: *Pinus taeda* L. (TRAZZI, 2014); *Eucalyptus grandis* (SILVA *et al.*, 2017 b); *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus urophylla* (PETTER *et al.*, 2012b); *Tectona grandis* (REZENDE *et al.*, 2013); *Magonia pubescens* (LIMA *et al.*, 2015); *Dipteryx alata* (BONI, 2015) e *Astronium fraxinifolium* (MIZOBATA, 2015) em solos de baixa fertilidade e angico (LIMA *et al.*, 2016) em solo de área de empréstimo.

Além desses, já foi demonstrado que o biocarvão também beneficia o crescimento de mudas das espécies arbóreas bracatinga (*Mimosa scabrella*) e cedro (*Cedrela fissilis*) em solos de áreas de mineração de carvão em recuperação (ROCHA, 2016).

Como pode ser observado nos estudos envolvendo a aplicação de biocarvão para diferentes espécies vegetais, há resultados variados entre as interações biocarvão-solo e biocarvão-plantas. Segundo Joseph *et al.*, (2010) os tipos de biocarvão e as interações ecológicas solo biocarvão são dependentes das propriedades físico-químicas da matéria prima a partir da qual o biocarvão foi obtido, do processo de pirólise, da granulometria, do sistema de aplicação do biocarvão e das condições edafoclimáticas do local de aplicação, e o impacto da aplicação de biocarvão nas funções ecológicas do solo depende da diversidade das condições do solo (XU, *et al* 2017a).

Assim, o sucesso do biocarvão no solo está condicionado a fatores como as técnicas de aplicação, variação das propriedades física-químicas do solo e do biocarvão, sendo as propriedades físico-químicas do biocarvão dependentes da composição elementar da matéria prima, do processo de produção e do tamanho das partículas (NOVAK *et al.*, 2014).

Além disso, deve-se enfatizar que o uso isolado do biocarvão com características de baixa disponibilidade de nutrientes em solos com baixa fertilidade como é aqueles de locais que empregam solos de áreas de empréstimo, pode ser ineficiente para o desenvolvimento vegetal conforme as condições de solo onde é aplicado (LIMA *et al.*, 2013, 2015).

Por essa razão, em programas de recuperação de áreas de mineração há a necessidade da aplicação de fertilizantes para que haja condições

favoráveis para se obter os benefícios proporcionados pelo biocarvão que serão determinantes para o sucesso na revegetação das áreas.

A melhoria do desenvolvimento vegetal proporcionado pelo biocarvão é maior quando o produto é combinado com solo fértil ou com adição de fertilizantes (STEINER *et al.*, 2007; PETTER *et al.*, 2012b; LIMA *et al.*, 2015). Assim, o biocarvão é uma alternativa viável como condicionador de solo para o crescimento vegetal, com potencial aumento na fertilidade e, em consequência, torna-se maior a produtividade das culturas (PETTER & MADARI, 2012; TRAZZI, 2014).

As raízes têm a função de suprir as necessidades de nutriente e água para a biomassa das plantas (FERNANDES, 2006). Contudo, os solos compactados, aumentam a resistência mecânica ao crescimento vertical das raízes da maioria das culturas (SILVA, 2017). A penetração das raízes nos poros do solo diminui com a diminuição do diâmetro do poro (CAMARGO & ALLEONI, 2006), e o alongamento radicular só é possível quando a pressão de crescimento das raízes for maior do que a resistência mecânica do solo à penetração (PASSIOURA, 1991)

Um dos principais benefícios do biocarvão para o crescimento vegetal está relacionado ao o favorecimento do crescimento radicular pela melhoria da fertilidade do solo e pela aeração do mesmo (LEHMANN *et al.*, 2011). Este efeito, foi comprovado por Headlee *et al.*, (2014) ao verificarem que, o emprego de substrato contendo 25% de biocarvão e 75% de turfa favoreceu a produção de massa seca das raízes de mudas clonais de *Populus nigra* L. e *Populus suaveolens*

A aplicação de biocarvão promove o aumento da porosidade do solo, do tamanho dos poros e das partículas (NÓBREGA, 2011), melhora a porosidade do solo e facilita a penetração das raízes (Madari *et al.*, 2009; VAN ZWIETEN *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2017c). E ainda contribui de maneira significativa, influenciando profundidade, textura, estrutura, consistência, distribuição do tamanho dos poros e das partículas, densidade e compactação (FERREIRA *et al.*, 2015).

Assim, mesmo em solos que apresentam características físicas de compactação, baixa porosidade e redução na infiltração de água como aqueles de áreas de empréstimo empregados nos programas de revegetação de áreas degradadas na bacia carbonífera catarinense (NICOLEITE *et al.*, 2013), a presença do biocarvão no solo pode ter efeitos satisfatórios no crescimento vegetal radicular e aéreo como estes obtidos no presente estudo.

Além disso, as raízes podem crescer no interior dos poros presentes nas partículas do biocarvão, favorecendo a formação de raízes finas com consequente aumento na capacidade de absorção de água e nutrientes (LEHMANN *et al.*, 2003; JOSEPH *et al.*, 2010). Entretanto, no presente

trabalho verificou-se que apenas a produção de raízes do calopogônio foi beneficiada pela adição de biocarvão ao solo.

Isso pode estar relacionado à melhoria da porosidade edáfica pela presença do biocarvão, com conseqüente otimização da característica de crescimento radicular dessa espécie, a qual apresenta raiz pivotante e com pequena produção de raízes finas, cujo sistema radicular vigoroso e profundo é capaz de romper camadas mais compactadas do solo, criando bioporos que facilitarão a aeração, o transporte de água e nutrientes para a mesma (SANTOS *et al.*, 2014; DAVANTEL, 2015).

Enquanto isso, as demais espécies herbáceas testadas como milheto e a braquiária possuem sistema radicular fasciculado, e desenvolvem-se nas camadas mais superficiais e pouco profundas, apresentando uma maior densidade das raízes, porém com menor profundidade efetiva (CUNHA, 2010) e, desta forma, apresentariam menor contribuição pela presença do biocarvão no solo.

Ainda de acordo com Lehmann *et al.*, (2011) o biocarvão na maioria dos casos melhora o crescimento das raízes entretanto, a abundância e o comportamento de crescimento radicular pode mudar em resposta à presença de biocarvão, variando de acordo com as propriedades do biocarvão e das condições que restringem o crescimento de raízes em ambientes diferentes do solo. Deve-se enfatizar que o sucesso do crescimento das raízes das plantas no interior dos poros das partículas de biocarvão pode estar condicionado ao tamanho do poro e a granulometria do biocarvão, uma vez que a porosidade é variável entre os biocarvões (SILVA, *et al.*, 2017c)

O uso de biocarvão no substrato em diferentes arranjos tende a equilibrar a relação MSPA/MSR da planta (LIMA *et al.*, 2016). No entanto, no presente trabalho a relação MSPA/MSR para o Mil foi de 17,4 no tratamento com a aplicação de biocarvão e de 9,9 no tratamento sem aplicação de biocarvão, demonstrando assim uma distribuição heterogênea dos fotoassimilados na biomassa dessa planta, cuja parte aérea apresentou maior concentração de massa seca em relação à raiz independente da presença ou da ausência do biocarvão no substrato. De acordo com Birchler *et al.*, (1998) para uma relação equilibrada MSPA/MSR, os valores desejáveis para a melhor qualidade das plantas devem estar abaixo de dois.

Entretanto, neste ensaio para a presença de biocarvão, os aumentos para o Mil foram de 78% para a biomassa total, e de 75% para a relação MSPA/MSR, ou seja, a relação parte aérea raiz, não aumentou proporcionalmente ao aumento da biomassa total. Isto sugere que o biocarvão provocou distribuição desproporcional na biomassa e o Milheto pode ser uma planta que tem como característica (ou ao menos nesta

condição teve) concentrar o maior volume de fotoassimilados em sua parte aérea.

Tal comportamento também foi verificado para plântulas de espécies de eucalipto *Eucalyptus citriodora* ao adicionar biocarvão no substrato (PETTER *et al.*, (2012) e de acordo com os autores, o fato de uma espécie apresentar crescimento com acúmulo de fitomassa em maiores proporções na parte aérea pode ser um indicativo de um mecanismo de preparo para condições adversas como déficit hídrico.

Por outro lado, também sabe-se que o milheto apresenta boa eficiência no uso de água e de nutrientes em condições normais de disponibilidade hídrica (VITAL *et al.*, 2015), e boa tolerância a estresse hídrico (ROCHA, 2017). Na recuperação de áreas degradada na Bacia Carbonífera catarinense, após a reconstrução topográfica, as atenções se voltam para a cobertura e a recuperação da matéria orgânica do solo.

Assim, o maior acúmulo de fitomassa na parte aérea do Mil encontrada na presença de biocarvão, pode favorecer a sua efetividade na cobertura e na retenção de umidade do solo, durante os dias mais quentes e secos que ocorrem na região das áreas de mineração em recuperação, ou mesmo em situações de estiagem, condições em que a difusão de CO₂ para o interior do mesófilo foliar é interrompida em função do fechamento estomático, e consequentemente a redução da produção de fotoassimilados (PETTER *et al.*, 2012b).

Conforme discutido anteriormente, ficam evidenciados os benefícios do biocarvão para o crescimento da parte aérea e raízes das plantas herbáceas quando crescidas de maneira solteiras. Em um cenário de consórcio destas plantas (Mix), os efeitos proporcionados pelo biocarvão são dependentes das várias interações que ocorrer ao longo do estabelecimento destas plantas no solo. Destacam-se a germinação diferenciada das sementes, sistemas radiculares diferenciados quanto à morfologia e velocidade de crescimento, além da competitividade da cobertura proporcionada pela parte aérea das plantas.

No presente trabalho, verificou-se que o milheto apresentou maior proporção de MSPA em relação ao calopogônio e braquiária. Isso pode estar relacionado com a sua maior velocidade de germinação, crescimento mais rápido e agressivo do sistema radicular e formação de parte área mais densa, cujas características favoreceram o seu estabelecimento em detrimento às demais. Desta forma, a significativa contribuição do biocarvão no tratamento Mix, deve-se principalmente à contribuição do milheto.

Considerando que o calopogônio é uma planta herbácea de germinação e crescimento lento, pouco tolerante a sombra (NICODEMO *et al.*, 2015), com importante contribuição no aumento do fornecimento de nitrogênio via

FBN (SANTOS, 2008; CALHEIROS *et al.*, 2013) e que neste trabalho na presença de biocarvão apresentou os maiores percentuais de aumento para MSR (31%), P (91%) e N (302%) e ainda o segundo maior para a MSPA (200%) em relação as gramíneas, sugere-se trabalhos futuros para a definição de combinações de intervalo de tempo de semeadura (entre plantas) e proporções adequadas de sementes para o tratamento Mix de modo a possibilitar maior condição de estabelecimento e competitividade desta leguminosa em solos de áreas de empréstimo em relação às gramíneas presentes nesse consórcio.

O biocarvão atua também no fornecimento de nutrientes para as espécies vegetais, cujos efeitos tem sido frequentemente documentado através do aumento da disponibilidade de N e P na zona de enraizamento das plantas. Entretanto, esses efeitos são dependentes das características inerentes do biocarvão como a presença de minerais em sua composição e demais características físico-químicas (LEHMANN, 2007; LEHMANN & JOSEPH, 2009; PETTER & MADARI, 2012; CARVALHO *et al.*, 2014; XU *et al.*, 2017b).

No presente estudo ficou evidenciado o efeito positivo da aplicação do biocarvão na absorção de N e P pelas plantas de cobertura, os quais apresentaram relação direta com a produção de biomassa das mesmas. Trabalhos com gramíneas e leguminosas corroboram os resultados do presente estudo e demonstram o potencial do biocarvão na melhoria do estado nutricional das plantas. Zhao *et al.*, (2014) verificaram que a aplicação de biocarvão de palha de arroz apresentou efeito positivo na absorção de N, P, K, Ca e Mg pelas plantas de arroz, devido principalmente ao aumento na disponibilidade desses elementos presentes no solo.

Em outro estudo, ficou evidenciado que a aplicação de 1% de biocarvão oriundo de resíduos de *Dalbergia sissuo* aumentou a absorção de N e P pelas plantas de trigo (Handami *et al.*, 2017). Já ao avaliar à influência do biocarvão derivado de salgueiro (*Salix spp.*), aplicado conjuntamente com um composto de resíduo orgânico sobre plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) Agegnehu *et al.*, (2015) e de milho (*Zea mays*) Agegnehu *et al.*, (2016), verificaram que esse substrato promoveu o aumento da clorofila foliar e da absorção de N e P pelas plantas nas duas culturas em relação ao tratamento contendo apenas fertilizante mineral.

Tais resultados estão relacionados com os efeitos do biocarvão no aumento da disponibilidade de nutrientes devido ao incremento de cargas no solo (CTC e CTA), aumento no pH, favorecimento da atividade microbiológica que pode favorecer a atuação de microrganismos promotores

do crescimento vegetal e a presença de nutrientes constituintes do biocarvão (LEHMANN & JOSEPH, 2009).

De fato, o biocarvão empregado no presente estudo é derivado da pirólise de cama de aviário que contém concentrações elevadas de nutrientes, especialmente N e P (Tabela 1). Além disso, ficou evidenciando no presente trabalho que a aplicação de biocarvão promoveu aumento do pH do solo, aumentando de 5,7 para 6,2 (média dos tratamentos de plantas de cobertura e controle) e isso tem contribuição direta na disponibilidade de nutrientes para as plantas (TAIZ & ZEIGER, 2010; DA COSTA, 2014).

Em solos ácidos e pobres em nutrientes, como é o caso dos solos de áreas de empréstimo em relação aos solos não manejados para tal fim ou preservados da região, a ação do biocarvão no equilíbrio do pH pode ser crucial para a preservação e restabelecimento das interações ecossistêmicas que o compõe. Boni (2015) e Mizobata (2015) avaliando o crescimento e a nutrição de mudas de duas espécies arbóreas nativas (*Dipteryx alata* e *Astronium fraxinifolium*) para a revegetação, em solo de área de empréstimo em recuperação no Cerrado, verificaram a influência positiva do biocarvão em bagaço de cana-de-açúcar na elevação do pH do solo.

Deve-se ressaltar que é necessário o monitoramento depois de seguidas aplicações de biocarvão no solo, pois pode haver elevação excessiva do pH, comprometendo a absorção de nutrientes e o estabelecimento das plantas nas áreas em recuperação.

O biocarvão influencia a atividade microbiana e atua na mineralização de C, N e P no solo (LEHMANN & JOSEPH, 2009). Quando aplicado, o biocarvão pode proporcionar aumento dos teores de carbono orgânico no solo, alteração na abundância e atividade de fungos micorrízicos e provimento de refúgio para microrganismos nos seus microporos (TRAZZI 2014). De acordo com Santos *et al.*, (2011) a respiração basal do solo (RB) é sensível às mudanças de fatores ambientais, sendo dependente da cobertura vegetal e do manejo do solo. No presente trabalho a RB foi quantificada para avaliar os efeitos do biocarvão sobre a atividade microbiana total do solo.

Verificou-se que entre os 20 e 35 dias após a semeadura o biocarvão promoveu o aumento na RB dos tratamentos Mil e Mix seguido de Bra. O aumento temporário da RB seguido do declínio com tendência ao retorno dos parâmetros iniciais pode estar associado à mineralização dos altos valores de C N e P presente no biocarvão (tabela 2).

A microbiota do solo é pobre em C (CARDOSO & ANDREOTE, 2016) e o incremento das taxas de C orgânico pela adição de biocarvão é de extrema importância para o aumento da mineralização, uma vez que aumenta a RB (IPPOLITO *et al.*, 2016). Sendo a degradação da celulose

componente que se faz presente em maior quantidade no C feita através de enzimas celulase, as quais são produzidas por bactérias e fungos, aeróbios e anaeróbios, mesófilos e termófilos (SACCO, 2013) e pelas actinobactérias (Albuquerque, 2016).

De acordo com Lehmann e Joseph, (2009) o biocarvão age como um promotor da atividade microbiana na mineralização de P. A transformação do P orgânico em P inorgânico é catalisada pelas enzimas fosfatases, produzidas por fungos, bactérias e plantas (SANTOS & MAIA, 2013). As fosfatases do solo são derivadas principalmente da população microbiana e têm sido sugeridas como um índice da atividade microbiana (DODOR & TABATABAI, 2003).

As fosfatases são agrupadas em ácidas e básicas e o tipo da enzima fosfatase varia de acordo com o pH do solo e o composto a ser degradado (MORALES, 2010). As fosfatases ácidas têm como pH ótimo de atividade catalítica a faixa de 4 a 6, enquanto as fosfatases básicas apresentam maior eficiência na faixa de 9 a 11 (FERNANDES, 2000).

Assim, considerando que o pH inicial do solo foi de 5,7 e sofreu aumento após aplicação do biocarvão, pode-se considerar que a presença do biocarvão promoveu a atividade dos microrganismos produtores das enzimas fosfatases contribuindo para a mineralização do P-orgânico com consequente efeito sobre o aumento da RB.

O biocarvão também pode apresentar influências positivas diretas e indiretas sobre a amonificação (LENMANN & JOSEPH, 2009), processo pelo qual o N orgânico é convertido em N inorgânico pela ação principalmente de bactérias heterotróficas e uma variedade de fungos (STEVENSON & COLE, 1999). Assim, a mineralização do N também pode ter contribuído para o aumento da RB.

Outra condição que pode explicar o aumento seguido do decréscimo da RB está no fato de que o biocarvão pode apresentar uma tendência à recalcitrância na mineralização ao logo do tempo. Isso porque no início do processo ocorre principalmente a mineralização dos compostos mais facilmente oxidáveis (lábeis) pelos microrganismos. Em seguida permanecem no biocarvão compostos de menor degradabilidade pela biomassa microbiana, como os compostos fenólicos.

O biocarvão não é inerte e pode produzir a formação e reciclagem de fontes de P orgânico altamente lábil (LENMANN & JOSEPH, 2009) e ainda produzir quantidades de C-lábil prontamente disponível para os microrganismos do solo usarem como fonte de energia num relativo curto espaço de tempo (SMITH *et al.*, 2010). Portanto, existem porções distintas de P e de C lábeis associado ao biocarvão que não é originário dos

compostos carbonizados estáveis. A parte lábil apresenta uma parcela alifática que é mais rapidamente mineralizável em curto prazo (MORALES, 2010; NÓBREGA, 2011; IGALAVITHANA *et al.*, 2017).

Este fato foi comprovado por Morales (2010) ao monitorar o efeito do biocarvão sobre a atividade microbiana do solo, em que a adição deste substrato ocasionou um pico de mineralização no início da aplicação, seguido de decréscimo e tendência à recalcitrância ao longo de 320 dias. Em outro trabalho, realizado com biocarvão de cama de frango Andrade *et al.*, (2015), notaram que a respiração basal do solo na presença deste substrato foi caracterizado por um período inicial de fluxos mais intensos de CO₂ e a redução desse fluxo com o tempo.

Dentre os tratamentos de plantas de cobertura testados, verificou-se que houve maior RB nos tratamentos com a presença de Mil e Mix seguido de Bra, ambos contendo biocarvão. De acordo com Petry (2015) uma das características metabólicas mais notáveis das raízes das plantas, está na capacidade de liberarem de 5-21% do carbono orgânico total fixado na fotossíntese na forma de exsudatos para a rizosfera das plantas, ocorrendo na forma de exsudação radicular (NEGUYEN, 2004).

Cujos exsudatos também são fontes de C-lábil para a biomassa microbiana que proporcionam o aumento da população de microrganismos na rizosfera (MATSUOKA; MENDES & LOUREIRO, 2003), e a elevação da atividade microbiana (MOREIRA & SIQUEIRA 2006; CUNHA, 2010; FIALHO, 2013). Além de fazer da interface raiz-solo um ambiente com alto potencial de desenvolvimento de microrganismos (PETRY, 2015).

Assim, a maior RB encontrada principalmente no Mil e Mix pode também estar condicionado à produção de maior volume de biomassa do milho em relação às demais plantas, seguido de uma maior liberação de exsudatos na rizosfera, tendo como consequência uma maior atividade microbiana.

7.2. BIOCARVÃO E PLANTAS DE COBERTURA NA ESTRUTURA DAS COMUNIDADES MICROBIANAS DO SOLO

No presente estudo a técnica de PCR/DGGE permitiu avaliar o comportamento de bactérias e fungos totais presentes no solo de empréstimo utilizado para recompor a topografia de áreas degradadas pela mineração de carvão, etapa que antecede a implantação do projeto de revegetação (NICOLEITE *et al.*, 2013), na presença de biocarvão e das principais plantas de coberturas de solo utilizadas no estágio inicial do referido processo.

Este é o primeiro estudo desta natureza neste tipo de solo, sobre o qual é comum o transplante de mudas de espécies arbóreas nativas, cujas

características ou comunidades microbiológicas são praticamente desconhecidas a não ser pelo trabalho Souza (2011) que avaliou as bactérias diazotróficas sob diferentes tipos de manejos de solo e Silva (2016) que analisou a estrutura das comunidades de bactérias e fungos em solos de áreas já reflorestadas.

No agrupamento hierárquico dos perfis de bandas rRNA 16S e rRNA ITS tanto na -B quanto +B ou mesmo na presença simultânea desses dois fatores, chama atenção a elevada heterogeneidade de estrutura dentro de todos os tratamentos. Conforme discutido anteriormente, o intenso processo de desestruturação e inversão dos horizontes ao qual o solo do presente estudo foi submetido resulta em alterações químicas e físicas do solo.

De acordo com Barcelos (2016), tais alterações podem influenciar positivamente ou negativamente a microbiota do solo. Segundo Souza (2011), nos solos de empréstimo da bacia carbonífera catarinense, a dinâmica, a densidade e a diversidade das populações de diazotróficos são alteradas pela exploração de carvão e posterior reconstrução do solo, como também pela forma como o solo é recomposto, além do manejo empregado em cada área.

Dessa forma, as circunstâncias de exploração do carvão e de reconstrução topográfica do solo da área em estudo pode ter selecionado grupos de espécies distintas com maiores versatilidades metabólicas ou mesmo ter levado grupos variados à aquisição de resiliência a estas condições. Uma vez que, os microrganismos do solo de modo geral muitas espécies são bastante versáteis em adaptar-se a mudanças ambientais (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006) e ainda podem existir comunidades microbianas edáficas tolerantes a certos distúrbios (BUSSE *et al.*, 2006).

Embora tenha sido feita apenas uma análise química do solo e antes do início do experimento, outro fator que pode influenciado este resultado, é o fato da própria instabilidade física-química do solo, a qual parece durar por longo tempo. Spiazzi (2011) ao analisar os atributos físicos e químicos do solo de empréstimo de duas áreas de recuperação na bacia carbonífera catarinense, com processos de recuperação de cinco e dezenove anos, evidenciou alta variabilidade física e química nos solos construídos.

Tais comportamentos também podem ter ocorrido no solo do presente trabalho contribuindo para heterogeneidade da estrutura das comunidades microbianas dentro dos tratamentos de plantas de cobertura e controle.

Na análise de ANOSIM a estrutura das comunidades bacterianas e fúngicas do solo, tanto para +B quanto para -B sobressaíram às comunidades na presença dos tratamentos com gramíneas (Mix, Mil e Bra) apresentando as maiores diferenças significativas sobre as comunidades na presença do

Cal. Os tratamentos que mais se destacaram foram o Mix e o Mil, os quais predominaram nas comunidades de bactérias.

Nas comunidades fúngicas a Bra apresentou-se como a gramínea com maior dissimilaridade efetiva na -B, enquanto a maior contribuição do Cal em relação aos demais tratamentos ocorreu na +B nas comunidades de bactérias e sobre o controle. Conforme discutido anteriormente, embora acredite-se que o biocarvão tenha melhorado a porosidade do solo, ao ponto de otimizar a característica de crescimento radicular do calopôgonio associada a sua forma, esta condição pode ter se restringido apenas a esta espécie, uma vez que, ao mesmo tempo contactou-se que o solo ainda apresentou-se bastante compactado.

De acordo com Nicoleite *et al.*, (2013) os solos de empréstimo da Bacia Carbonífera Catarinense apresentam elevada compactação. A compactação do solo provoca decréscimo no volume dos macroporos responsáveis pela aeração restringindo a transferência de O₂ para os microrganismos e raízes (SEIXAS, 1988; DAMANE, 2016), e a quantidade de oxigênio na rizosfera pode ser limitante nos processos metabólicos (BEUTLER & CENTURION, 2004).

Desta forma na presente condição, o fato de as gramíneas promoverem as maiores diferenças estruturais nas comunidades microbianas, pode estar relacionado ao sistema radicular denso e superficial destas plantas no solo. Uma vez que, em solos compactados, tal condição pode ocasionar redução na difusão de O₂ nas camadas mais profundas do mesmo, condição que pode reduzir as populações de bactérias e fungos totais (SMELTZER *et al.*, 1986), além de afetar a diversidade e a atividade da biomassa microbiana (SILVA, 2005; PUPIN, 2008; SOUZA, 2011). Já que, a aeração deficiente favorece apenas o condicionamento do metabolismo microbiano anaeróbico (JUNIOR, 2012).

A cobertura vegetal é responsável pela troca e armazenamento de energia térmica nos ecossistemas terrestres (CARNEIRO *et al.*, 2013) e o fluxo de calor do solo é altamente influenciado pela cobertura do mesmo (CUNHA *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*; 2011). Assim, as características ecofisiológicas de maior percentual de MSPA das gramíneas em relação ao Cal, também pode ter contribuído para a modulação das comunidades microbianas, visto que, o maior volume de biomassa da parte aérea destas plantas, pode favorecer o aumento no sombreamento do solo nas unidades amostrais, com conseqüente redução nos percentuais de evaporação, e aumento na retenção de umidade, condição que favorece a atividade microbiológica do solo (SOUZA 2011; CAPUCHO, 2016).

Além disso, a presença da cobertura vegetal por ocasião do aumento da umidade do solo, faz diminuir as oscilações térmicas que é o principal

fator envolvido no aumento da população de microrganismos solubilizadores de P, amonificadores, nitrificadores e fungos micorrízicos (FILHO *et al.*, 2014) e quanto maior a densidade de cobertura sobre o solo, menor é a variação da temperatura no seu perfil (GASPARIM *et al.*, 2005).

Este fato foi comprovado por Cortez *et al.*, (2015), ao avaliarem a umidade e a temperatura do solo, no desenvolvimento do milho (*Zea mays*) observaram que a oscilação térmica proporcionada ao solo, pela parte aérea da cultura varia conforme o índice de cobertura, sendo menor nos sistemas com maior índice de cobertura vegetal e nos estádios mais avançados de desenvolvimento da planta.

Em estratégias de recuperação de áreas degradadas pelo processo de mineração na bacia carbonífera catarinense, de acordo com Souza (2011) a deposição das folhas das plantas e o crescimento das raízes estabilizam o solo e aumentam a sua atividade biológica. Vendruscolo *et al.*, (2016) avaliando uma área de solo de empréstimo em recuperação, propuseram que a alta produtividade de biomassa vegetal da braquiária, tanto da parte aérea quanto radicular, proporciona o aumento da atividade da microbiota edáfica.

Além disso, Silva *et al.*, (2007) trabalhando com diferentes coberturas de solo, verificaram que há influência do tipo de cobertura sobre os atributos biológicos do solo, visto que, a quantidade e a qualidade do material que se deposita no solo sofre efeito direto do tipo de vegetação e das condições ambientais (VENDRUSCOLO *et al.*, 2016), alterando a heterogeneidade da microbiota e a taxa de decomposição dos materiais (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002).

A análise dos efeitos da adição do biocarvão, sobre os perfis de bandas dentro de cada um dos tratamentos avaliados, exceto para o tratamento Con (nas comunidades fúngicas), demonstrou que, a presença do biocarvão promoveu dissimilaridades significativas que variaram de grupos altamente sobrepostos a grupos altamente distintos na estrutura das duas comunidades microbianas estudadas.

Conforme já visto anteriormente o Mix e o Mil confirmaram os altos desempenhos obtido no presente estudo, ao apresentarem também os maiores valores de separação de grupos dentro das comunidades bacterianas e fúngicas. Entretanto, nas comunidades fúngicas os maiores valores foram encontrados para o Cal seguidos do Mil e Mix. Assim, e na presente condição, os efeitos da presença do biocarvão sobre as comunidades edáficas variaram de acordo o tipo de planta e a comunidade estudada.

Os microrganismos do solo coabitam dinamicamente e desenvolvem parcial ou integralmente seus ciclos vitais no solo, tendo envolvimento direto em diversos processos no seu habitat e alterações nas condições químicas do solo podem limitar as comunidades microbianas, selecionando organismos específicos (CARDOSO, TSAI & NEVES, 1992; MOREIRA & SIQUEIRA, 2002), (SILVA; VIDAL-TORRADO & LAMBAIS, 2015).

Dentre as condições químicas pode-se destacar as fontes de carbono depositadas no solo que atuam na seleção das comunidades microbianas do mesmo (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). O biocarvão fornece ao solo substrato carbonáceo e elevada área de superfície interna para colonização microbiana, aumentando as atividades microbiológicas o crescimento e a reprodução dos microrganismos, particularmente as bactérias, actinobactérias e fungos micorrízicos arbusculares (LEHMANN & JOSEPH, 2009). De acordo com Barcellos (2016), os efeitos mais evidentes do biocarvão nos primeiros dias ocorrem nos fungos e bactérias totais.

Na literatura é crescente o número de pesquisas que investigam a efetividade do biocarvão no comportamento das comunidades microbianas em diversos tipos de solos e sob métodos e técnicas de análises distintas, os quais corroboram os resultados obtidos. Em solos agrícolas Santos *et al.*, (2011; 2013) analisaram por T-RFLP e qPCR o efeito do biocarvão na estrutura de comunidades bacterianas do solo rizosférico e não rizosférico do sistema radicular da soja (*Glicine max*), e concluíram que o biocarvão alterou a estrutura das comunidades de bactérias totais, favorecendo uma maior diversidade bacteriana no solo.

Sigmund *et al.*, (2018) a partir de dois tipos de solos agrícolas avaliaram, por método PCR/DGGE as comunidades fúngicas e perceberam que, a adição do biocarvão aumentou a intensidade e o número de bandas, ou seja aumentou a abundancia e a diversidade de espécies. Barcelos (2016) após 20 dias da aplicação do biocarvão ao solo, utilizando o meio de contagem de viáveis em meio de cultura, verificou efeito positivo sobre as densidades populacionais de fungos e bactérias totais.

Wu *et al.*, (2016), avaliando comunidades bacterianas por meio do rRNA 16S bacteriano e genes marcadores funcionais de ciclagem de nitrogênio do solo, verificaram que o biocarvão adicionado ao composto orgânico aumentou a riqueza e a diversidade das comunidades bacterianas e o número de cópias dos genes 16S rRNA, nirK, nirS e nosZ de bactérias e, os genes de *Archeae* e bactérias oxidantes de amônia.

Conforme mencionado, o efeito do biocarvão neste trabalho apresentou correlação direta entre a produção de MSPA, respiração basal e quantidades acumuladas de N e P para os tratamentos das plantas de cobertura Mil e Mix. Tal comportamento se refletiu nas análises moleculares

das comunidades fúngicas e bacterianas, sendo esta relação mais expressiva no grupo das bactérias.

Como visto anteriormente a cobertura vegetal influencia várias características do solo, incluindo o funcionamento biológico (AYRES *et al.*, 2009), de acordo com Andreote *et al.*, (2010) vários artigos mostram que plantas com genótipos distintos podem apresentar comunidades microbianas distintas. A planta seleciona microrganismos específicos para ocupar a rizosfera, os quais são caracterizados pelo genótipo da planta e o tipo de solo (CARDOSO & ANDREOTE, 2016).

Acredita-se que por meio da rizosfera as plantas podem recrutar a partir do solo, os grupos microbianos que serão benéficos ao seu desenvolvimento (MENDES *et al.*, 2011; PEREIRA, 2013). Mas há também os não convidados (CARDOSO & ANDREOTE, 2016). Dessa forma, as comunidades microbianas nas rizosferas de diferentes espécies de plantas que crescem no mesmo solo são diferenciadas.

Por outro lado, sabe-se que as bactérias presentes na rizosfera podem influenciar as plantas, de forma que uma ampla gama dessas bactérias serão capazes de promover crescimento das plantas através de sinais químicos, e produção de compostos, tais como auxinas, giberelinas ou glicolípídeos (BERTRAND *et al.*, 2001).

Pelo fato, de ter sido coletado o solo aderido às raízes para as análises moleculares, outro fator que pode estar envolvido na modulação das comunidades microbianas é o efeito rizosférico, caracterizado pela liberação de uma grande variedade de compostos no solo como etileno, aminoácidos, ácidos orgânicos, vitaminas, polissacarídeos, derivados de ácidos nucleicos, fatores de crescimento e enzimas, além de outros compostos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

Estes compostos são variáveis e atuam como mensageiros, estimulando as interações físicas e biológicas entre os organismos do solo e as raízes (PEREIRA, 2013). As diversas formas de interação condicionam a atividade dos microrganismos incluindo principalmente bactéria e fungos e é também na rizosfera que a biodiversidade dos microrganismos do solo é mais elevada (CASTRO & FARELEIRA, 2017).

Devido à quantidade e a diversidade de compostos orgânicos, depositados em forma de exsudatos na rizosfera, assim como ao ambiente físico-químico. A quantidade e os tipos de microrganismos na rizosfera podem exceder mais de mil vezes aquela do solo não rizosférico (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). O ambiente rizosférico é o habitat mais rico em espécies de fungos, que geralmente distribuem-se segundo a disposição da matéria orgânica (BARBOSA, 2011).

Entretanto, as espécies de plantas, bem como os tipos de comunidades vegetais, podem afetar a diversidade estrutural e funcional da comunidade microbiana da rizosfera principalmente devido a variações na composição dos exsudatos radiculares e dos sinais bioquímicos neles contidos, (CARDOSO & ANDREOTE, 2016).

A composição de exsudatos da raiz, ainda é fortemente afetada pelo estágio de desenvolvimento da planta (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), que por sua vez pode afetar as comunidades microbianas presentes na rizosfera ao longo do tempo. Tais substâncias criam ambientes únicos e dinâmicos para os microrganismos em associação com as raízes das plantas na rizosfera. Espécies distintas de bactérias, por exemplo, respondem diferentemente aos exsudatos das raízes de plantas de espécies diferentes; logo, diferentes composições desses exsudatos podem selecionar comunidades diferentes na rizosfera da planta (PINTO, 2015).

Assim, a rizosfera das plantas é considerada o ambiente que apresenta maior diversidade microbiana, devido à exsudação das raízes modificando dinamicamente as condições e nutrientes neste ambiente (BAIS *et al.*, 2006; PEREIRA, 2013). É também importante local de ocorrência dos processos relacionados com a nutrição da planta, trocas de O₂ e CO₂, gradientes de unidades do solo, mineralização, amonificação, nitrificação e simbiose (EMBRAPA, 2018).

Em áreas de empréstimo, normalmente os solos são coletados em camadas sub-superficiais, os quais apresentam baixos teores de matéria orgânica e, conseqüentemente, baixa atividade biológica no solo. Assim, a introdução de vegetação nesse tipo de solo tão peculiar pode ativar as comunidades microbianas por meio: dos estímulos que ocorrem na rizosfera; da deposição de material orgânico derivado da decomposição das raízes e da incorporação de resíduos da biomassa da parte aérea.

Por outro lado, acredita-se que a microbiota possui papel primordial para o desenvolvimento das espécies vegetais nativas de surgimento espontâneo e transplantadas nestes solos, sendo também de fundamental importância em programas de revegetação dessas áreas.

Embora com valores pouco expressivos o menor número de bandas encontrado para as comunidades fúngicas, o qual indica uma menor diversidade estrutural microbiana em relação às comunidades bacterianas (independente da aplicação do biocarvão), pode estar associado à baixa concentração de matéria orgânica no solo do presente estudo.

Uma vez que, segundo Spiazzi (2011) mesmo depois de corrigidos os solos de empréstimo da bacia carbonífera catarinense em geral demonstram pobreza química principalmente no que diz respeito aos teores de Ca+ Mg e P, e a maior seletividade das comunidades fúngicas no ambiente pode ser

explicada pela maior dependência deste grupo de microrganismos por fontes de carbono específicas. Enquanto as bactérias apresentam uma maior versatilidade metabólica, com potencial para explorar diferentes nichos (GLAZER & NIKAIDO, 2007).

Nos solos rizosférico as bactérias são capazes de apresentar versatilidade metabólica que permitam superar as mudanças de condições ambientais e as flutuações na concentração de nutrientes liberados pelas raízes (PEREIRA, 2013). Este fato foi comprovado, em trabalho realizado para analisar a estrutura das comunidades microbianas em solo de área de restinga Pinto (2015) obteve uma diversidade estrutural bacteriana similar nas três áreas avaliadas mesmo com características bióticas e abióticas distintas, enquanto a estrutura das comunidades fúngicas apresentou diferenças significativas entre as mesmas áreas.

8. CONCLUSÕES

O biocarvão aplicado ao solo de área de empréstimo beneficiou o crescimento de plantas de cobertura cultivadas (solteiras e consorciadas) e isso se refletiu no acúmulo de N e P na parte aérea das plantas, indicando o potencial desse substrato na revegetação de solos de áreas de mineração de carvão em recuperação.

A presença do biocarvão no solo promoveu aumento no pH do solo e na respiração basal, principalmente nos tratamentos de planta de cobertura contendo milheto e no consórcio (braquiária + calopogônio + milheto).

A estrutura das comunidades microbianas do solo foi mais influenciada pela presença de biocarvão no solo do que pela presença de plantas de cobertura, sendo verificado incremento no número de bandas das comunidades de bactérias e fungos na presença de biocarvão. Desta forma, o biocarvão associado com as plantas de cobertura pode aumentar a diversidade da comunidade microbiana e acelerar a recuperação de solos degradados pela mineração de carvão.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos para restauração das áreas impactadas na bacia carbonífera de Santa Catarina evoluíram nos últimos anos, mas diversos desafios ainda existem e provavelmente outros estão por vir. O grande esforço para os próximos anos deverá se concentrar em restaurar as áreas degradadas a começar pela restauração dos solos, dando a eles as condições necessárias para o início do lento e complexo processo de regeneração e assim permitir o restabelecimento das interações fauna edáfica-solo planta, aumentando os níveis de recuperação e conservação da biodiversidade local e dos recursos hídricos para garantir o retorno dos serviços ecossistêmicos locais.

No presente estudo, o uso de biocarvão como substrato junto ao solo de empréstimo, demonstrou ser eficiente favorecendo o aumento da biomassa e absorção de nutrientes pelas plantas de cobertura, com benefícios também para as comunidades microbianas do solo. Na presença de biocarvão as gramíneas apresentaram os maiores volumes de MSPA e de absorção dos nutrientes avaliados.

Entretanto, a de se considerar que, o *Calopogônio* apresentou os maiores percentuais de aumentos, tanto para a MSR quanto para a absorção dos nutrientes e ainda obteve o segundo maior percentual de aumento na MSPA, além do mais, dada a sua contribuição na fixação de N_2 atmosférico poderá também ter importância crucial principalmente no processo inicial de recuperação destas áreas.

Mesmo assim, é imprescindível a continuação de pesquisas direcionadas para a melhor compreensão: dos percentuais de sementes de cada planta e dos intervalos de semeadura destas para o consórcio; da melhor composição para a construção e estruturação dos solos, bem como compreender as implicações químicas e físicas dos substratos e das plantas de cobertura sobre as comunidades microbianas do solo.

Deve-se enfatizar que a recuperação desses ambientes é bastante dinâmica e, por isso, deve-se realizar o monitoramento das condições físicas, químicas e biológicas dos mesmos, principalmente durante o surgimento de espécies vegetais espontâneas que se estabelecem durante os programas de recuperação ambiental.

Sugere-se ainda, que pesquisas futuras abordem aspectos relacionados à identificação e obtenção de informações sobre as alterações ambientais associadas a distúrbios e aos estágios de recuperação, principalmente no que diz respeito às comunidades microbianas do solo. Desta maneira, tais resultados podem aumentar o conhecimento sobre os recursos genéticos disponíveis e a sua distribuição geográfica nas áreas

impactadas pela mineração de carvão, de modo a incrementar conhecimentos que possam ser aplicados em programas de recuperação ambiental.

REFERÊNCIAS

ACINAS, S. G. *et al.* Divergence and Redundancy of 16S rRNA Sequences in Genomes with Multiple Operons. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 9, p. 2629-2635. 2004. Disponível em: <http://jb.asm.org/content/186/9/2629.abstract>.

AGEGNEHU, G.; BASS, A. M.; NELSON, P. N.; BRIAN, M.; WRYGHT, G.; BIRD, M. I. Biochar and biochar-compost as soil amendments: Effects on peanut yield, soil properties and greenhouse gas emissions in tropical North Queensland, Australia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v. 213, p. 72-85. 2015.

AGEGNEHU, G.; BASS, A. M.; NELSON, P. N.; BIRD, M. I. Benefits of, compost and biochar-compost for soil quality, maize yield and greenhouse gas emissions in a tropical agricultural soil. **Science of the Total Environment**. v. 543, p. 295-306. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA – ANEEL. Atlas de energia elétrica do Brasil. III parte Fontes não-renováveis. Cap. 9. **Carvão mineral**. p. 132. 2010.

ALBUQUERQUE, G. H. S.; COSTA, F. N. C.; BRASIL, S. N. R.; SILVA, V. M. A.; MARTINS, S. C. S. Atividade celulolítica de actinobactérias de solo do semiárido brasileiro: **1º congresso internacional da diversidade do semiárido**. Campina Grande Paraíba. 2016.

ALVES, B, J. R.; URQUIAGA, S.; AITA, C.; BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; CAMARGO, F. A. O. Manejo de sistemas agrícolas: Impacto no Sequestro de C e Emissões de Gases de Efeito Estufa. Porto Alegre. **Genesis**, 1ª ed. 216p. 2006.

ALVES, M. S. da S. **Uso de indicadores biológicos para avaliação da qualidade do solo sob cultivo de culturas agroenergéticas em Pedro Afonso, Tocantins**. Dissertação de mestrado-Universidade Federal de Tocantins, Palmas – TO. 81p. 2014.

AMADO, T. J. C.; MIELNICZUCK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema de plantio direto. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 26, p. 241-248. 2002.

AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological Reviews**, v. 59, n. 1, p. 143-169. Mar 1995. ISSN 0146-0749 (Print). Disponível em: <<http://dx.doi.org/>>.

ANDRADE, R. O. Biocarvão melhora fertilidade e ajuda na descontaminação do solo. **FAPESC**. Edição Online 21:31 15 de janeiro de 2015.

ANDRADE, C. A. de.; BIBAR, M. P. S.; COSCIONE, A. R.; PIRES, A. M. M.; SOARES, A. G. Mineralização e efeitos de biocarvão de cama de frango sobre a capacidade de troca catiônica do solo. **Pesq. agropec. bras.** Brasília, v. 50, n. 5, p. 407-416. maio 2015. DOI: 10.1590/S0100-204X2015000500008

ANDREOTE, F. D. et al. Effect of bacterial inoculation, plant genotype and developmental stage on root-associated and endophytic bacterial communities in potato (*Solanum tuberosum*). **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 97, n. 4, p. 389-399. 2010.

ANTAL, J.R, M. J; GRONLI, M. The art, science, and technology of charcoal production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**. v. 42, p. 1619-1640. 2003.

ANTUNES, P. As marcas do passado que não podem ser esquecidas. **In: Brasil Mineral: Edição Especial Mineração e Meio Ambiente**. n. 228. 2004.

ATKINSON C. J.; FITZGERALD N, HIPPS A. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. **Plant and Soil**. V. 337, p. 1–18. 2010.

ÁVILA, F. Agência Nacional de Energia. **AIE pede corte de subsídios aos combustíveis fósseis**. Instituto Carbono Brasil/Agências internacionais. 2011.

ÁVILA, F. **Agência Nacional de Energia (AIE)**. Para cada US\$ 6 em subsídios fósseis, apenas US\$ 1 é gasto em renováveis. Instituto carbono Brasil. **IN: Instituto humanitas unisinos 2013**.

AYRES, E. et al. Tree Species Traits Influence Soil Physical, Chemical, and Biological Properties in High Elevation Forests. **PLoS ONE**, v. 4, n. 6, p. 1-11. 2009.

BAKER, B. J.; BANFIELD, J. F. Microbial communities in acid mine drainage. **FEMS Microbiology Ecology** v. 44, p. 139–152. 2003.

BAIS, H. P. The Role of Root Exudates in Rhizosphere Interactions with Plants and Other Organisms. Annu. **Plant Biol.**, Colorado, p. 233-266. 2006.

BARBOSA, L. de O. **Avaliação da biossolubilização de potássio a partir de agrominerais empregando fungos filamentosos.** Dissertação de mestrado. Escola Química-EQ/UFRJ. Rio de Janeiro, 60p. 2011.

BARCELOS, J. G. **Influência do biocarvão sobre os micro-organismos do solo e as atividades das bombas de prótons.** Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense–Campos dos Goytacazes, 95p. 2016.

BARRETO, M. L.; CHAVES, A. P.; JONHSON, B.; FERNADES, F.; SIROTHEAU, G. J. C.; LIMA M. H. R.; BÔAS, R. C. V.; NAHASS S. **Mineração e Desenvolvimento Sustentável: Desafios para o Brasil.** CETEM/MCT, 3 ed. – Rio de Janeiro, 215 p.: il. D. 2001.

BASCH, G.; KASSAM, A.; FRIEDRICH, T.; SANTOS, F. L.; GUBIANI, P. I.; CALEGARI, A.; REICHERT, T. M.; SANTOS, D. R. dos. Sustainable soil water management systems. In: LAL, R.; STEWART. B. A. (Ed.). **Soil water and agronomic productivity.** Boca Raton: CRC, p. 229-228. (advances in soil science). 2012.

BECKER, K.; HARMSSEN, D.; MELLMANN, A.; MEIER, C.; SCHUMANN, P.; PETERS, B.G.; VON. E. C. Development and evaluation of a quality controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA based identification of Staphylococcus species. **J. Clin. Microbiol.** v. 42, n. 11, p. 4988-4995. 2004. <http://docplayer.com.br/8239264-Quantificacao-de-bacterias-endofiticas-em-plantas-de-sisal-utilizando-pcr-em-tempo-real.html>

BENITES, V.M.; MADARI, B. E.; MACHADO, P. L. O. A. Matéria Orgânica do Solo. In: Wadt, P.G.S. (ed.) Manejo do Solo e Recomendação de Adubação para o Estado do Acre. Rio Branco: **Embrapa Acre**, P. 93-120. 2005.

BERTRAND, H. et al. Isolation and identification of the most efficient plant growth-promot. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, n. 2, p. 152-156. 001.

BEULTER, A. N.; CENTURION, J. F. Compactação do solo no desenvolvimento radicular e na produtividade da soja. **Rev. Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.39, n.6, p.581-588. 2004.

BIAN, Z.; INYANG, H. I.; DANIELS, J.L.; OTTO F.; STRUTHERS, S. Environmental issues from coal mining and their solutions. **Mining Science and Technology**. v. 20. p. 0215–0223. 2010.

BIRCHLER, T.; ROSE, R. W.; ROYO, A.; PARDOS, M. La planta ideal: revisión del concepto, parâmetros definitorios e implementación práctica. Investigación Agraria: **Sistemas y Recursos Forestales**, v.7, p. 109-121. 1998.

BOLIGER, A.; MAGID, J.; AMADO, T. J. C.; SKÓRA, F. N.; RIBEIRO, M. de F. dos S.; CALEGARI, A.; RALISCH, R.; NEERGAARD, A. de. Taking stock of the Brazilian “zero till revolution”: a review of landmarck research and farmers practice. **Advances in agronomy**. New York, v. 91, p. 47-110. 2006.

BONI, T. S. **Estado nutricional de mudas de Baru (Diptery xalata) em área de recuperação e remanescentes de cerrado**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 55p. 2015.

BORBA, R. F. **Carvão mineral**. Balanço Mineral Brasileiro, p. 1-19. 2001.

BORGES, S. Z. (MTb-MG 08223 JP). **Adubação verde eleva a capacidade produtiva do solo**. Embrapa Agropecuária Oeste Dourados MS. 2016.

BRANCO, P. M. **Carvão mineral**. COMPANIA DE PESQUISAS DE RECURSOS MINERAIS-CPRM E SERVIÇO GEOLÓGICO DO BRASIL-SBG. 2016.

BRASIL. Constituição. Brasileira. **Decreto nº 85.206, de 25 de setembro de 1980**. Altera o artigo 8º do Decreto nº 76.389, de 3 de outubro de 1975 acrescentando, a esse artigo inciso "XIV - Região Sul do Estado de Santa Catarina."1980.

_____. **Decreto 14. 12. 2000**. Criação do comitê gestor para Recuperação Ambiental da Bacia Carbonífera de Santa Catarina. 2000.

____ Portal. **Carvão mineral recebe investimentos em tecnologia**, 2011.

____ **O Novo Código Florestal Brasileiro**. Lei Federal nº 12,651. Brasília: Congresso Federal. 2012.
http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Lei/L12651.htm

____ Justiça Federal. 1ª Vara Federal de Criciúma, SC. Ação Civil Pública nº93.8000533-4 (Processo nº 2000.72.04.002543-9). **Crítérios para recuperação ou reabilitação de áreas degradadas pela mineração de carvão**. Criciúma, p19. mar. 2013.

____ Portal. **Carvão mineral**, 2011, modificado em. 2014.

BROWN, R. Biochar production technology. In: LEHMANN, J.; JOSEPH, S. (Eds). **Biochar for environmental management: Science and Technology**. London: Earthscan, p. 127-148. 2009.
http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/N-CAP-9FMNZ/dissertacao_isley_2016.pdf?sequence=1

BRUM, I. A. S. **Recuperação de áreas degradadas pela mineração** (monografia). Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola Politécnica-USP. São Paulo. 2000.

BRUNDRETT, M. C. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. **Plant Soil**, v. 320. p. 37–77. 2009. doi:10.1007/s11104-008-9877-9.

BUSSE, M. D.; BEATTIE, S. E.; POWERS, R. F.; SNCHEZ, F. G.; TIARKES, A. E. Microbial community responses in forest mineral soil to compaction, organic matter removal, and vegetation control. **Canadian Journal of Forest Research**. v. 36, n. 3, p. 577-588. 2006.

CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULISANI, E. A.; WINDNER, L. P.; COSTA, M. B. B. da; ALCÂNTARA, P. B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T. J. C. Aspectos gerais da adubação verde. In: COSTA, M.B.B. da (Coord.). **Adubação verde no sul do Brasil**. 2ª ed. Rio de Janeiro: AS-PTA, p. 01-56. 1993b.

CALEGARI, A.; HARGROVE, W. L.; RHEINHEIMER, D. S.; RALISCH, R.; TESSIER, D.; TOURDONNET, S.; GUIMARÃES, M. F. Impact of long-term no-tillage and cropping system management on soil organic carbon in an oxisol: a model for sustainability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, n. 4, p. 1013-1019, july/aug. 2008.

CALEGARI, A.; RHEINHEIMER, D.S.; TOURDONNET, S.; TESSIER, D.; HARGROVE, W. L.; RALISC, R.; GUIMARÃES, M. F.; TAVARES, J. F. Effect of soil management and crop rotation on physical properties in a long term experiment in Southern Brazil. In: World congress of soil science, 19. 2010. Brisbane. **Soil solutions for a changing world.**: proceedings. Birsbane: IUSS; 29-32. 1 DVD 2010.

CALEGARI, A.; HARGROVE, A. W.; RHEINHIMER, D. dos S.; RALISHC, R.; TESSIER, D.; TOUDONNET, S de.; GUIMARÃES, M. de F. Impact of long-term no-tillage and cropping system management on soil organic carbon in an oxisol: a model for sustainability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 100, n. 4, p. 1013-1019, july/aug. 2008.

CALHEIROS, A. S.; LIRA, J. M, de A.; SOARES, D. M.; FIGUEIREDO, M. do V. B. Capacidade simbiótica de rizóbios de calopogônio de diferentes coberturas vegetais de um argissolo de Pernambuco. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**. v. 37, n .4, p.869-876. 2013.

CAMARGO de, O. A.; ALLEONI, L.R.F. **Efeito da compactação no crescimento de plantas**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em:<http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/C5/Index.htm>. Acesso em: 31/7/2018.

CANO, T. M. **Carvão mineral**. Departamento Nacional de Produção Mineral-DNPM. 2010.

CANTALISE, J. R. B.; BEZERRA, S. A. Influência da cobertura do solo nas perdas de água e desagregação do solo em entressulcos. **Rev. Caatinga** (Mossoró, Brasil), v. 22, n. 3, p. 18-28. 2009.

CAPUCHO, M. E. V. **Emissão de CO2, temperatura e umidade do solo sob diferentes sistemas de cobertura de solo no cultivo de yacon**. Monografia de trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro ES. 35p. 2016.

- CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 360 p. 1992.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo** - 2ª ed. (recurso eletrônico) Piracicaba-ESALQ. 221p. 2016.
- CARNEIRO, R. G.; MOURA, M.A. L.; SILVA, V. P. R.; SILVA JÚNIOR, R. S.; ANDRADE, A. M. D.; SANTOS, A.B. Estudo da temperatura do solo em dois biomas florestais nos períodos, chuvoso e seco. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v. 6, p. 1009-1022. 2013.
- CARON, N. **Aplicação de biocarvão de lodo de esgoto no crescimento e simbioses radiculares de *Mimosa scabrella* em solo degradado pela mineração de carvão**. Trabalho de conclusão de curso Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC 91p. 2014.
- CARVALHO, M. T. de M.; MAIA, A. de H. N.; MADARI, B. E.; BASTIAANS, L.; VAN OORT, P. A. J.; HEINEMANN, A.B.; SILVA, M. A. S. da; PETTER, F. A.; MARIMON JR. B. H.; MEINKE, H. Biochar increases plant available water in a sandy loam soil under an aerobic rice crop system. **Solid Earth**, v. 5, p. 939-952. 2014.
- CASTILHOS, Z. C.; FERNANDES, F. R. C. A bacia carbonífera sul catarinense e os impactos e passivos da atividade da indústria extrativa mineral de carvão na territorialidade. In: FERNANDES, F. R. C.; ENRIQUEZ, M. A; ALAMINO, R, C. J. (Eds.). **Recursos Minerais e Territorialidade**: v. 1, p. 259-282. Grandes Minas e Comunidades Locais, CETEM/MCTI. 2011.
- CASTRO, I. V.; FARELEIRA, P. Papel dos microrganismos do solo na recuperação de solos degradados. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária-INIAV, I. P. **Vida rural**. p. 40-42. 2017.
- CETEM-Centro de Tecnologia Mineral. Projeto conceitual para recuperação ambiental da bacia carbonífera sul catarinense. **Relatório Técnico**. Santa Catarina: SIECESC. v. 1. 2001.
- _____. **Drenagem ácida de minas**: um dos passivos ambientais das áreas de mineração de carvão no Sul do país. 2013.

CHAN, K. Y.; VAN ZWIETEN, L.; MESZAROS, I. DOWNIE, A.; JOSEPH, S. Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. **Australian Journal of Soil Research**. v. 45, p. 629-634, 2007.

CHIDUMAYO, E.N. Effects of wood carbonization on soil and initial development of seedlings in miombo woodland, Zambia. **Forest Ecology and Management**, v.70. p. 353-357. 1994.

CITADINI-ZANETTE, V. Diagnóstico Ambiental da Região Carbonífera no Sul de Santa Catarina: recuperação de áreas degradadas pela mineração de carvão. **Revista Tecnologia Ambiente**, v. 5, n. 2, p. 51-61. 1999.

CLARKE, K. R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. **Australian journal of ecology**, v. 18, n.1988, p. 117-143. 1993.

COLMER, A. R.; HINKLE, M. E. The Role of Microorganisms in Acid Mine Drainage: preliminary report. **Science**, v.106, p. 253–256. 1947.

COMPANIA DE PESQUISA DE RECURSOS MINERAIS (CPRM). Planos de recuperação de áreas degradadas pela mineração do carvão, no Estado de Santa Catarina, correspondentes às áreas da Ex-Treviso S. A. de responsabilidade da união. **PRAD executivo bloco 2, área v.2 – Santa Luzia**. Ação civil pública nº 93.8000533-4 (processo de execução nº 2000.72.04.002543-9) Criciúma - SC, dezembro 2010.
www.jfhttpssc.jus.br/acpdocarvao/2011/PRADS/PRAD_Executivo_area-V2_Santa-Luzia.htm

CORRÊA, J. Atividade Minerária no Sul de Santa Catarina: Impactos Ambientais Decorrentes da Exploração do Carvão. **Busca Legis**.ccj.ufsc.br, p.10, 17p.2008.

CORTEZ, J. W.; NAGAHAMA, H. J.; OLSZEWSKI, N.; FILHO, A. P. P.; SOUZA, E. B. Umidade e temperatura de argissolo amarelo em sistemas de preparo e estádios de desenvolvimento do milho. **Engenharia. Agrícola**. Jaboticabal. v. 35. n. 4. p. 699-710. 2015.

COSTA, N. L.; BENDAHAN A. B.; GIANLUPPI, V.; RIBEIRO, P. S. M.; BRAGA, R. M. *Calopogonium mucunoides*: **Características Agrônômicas, Produtividade e Manejo**. Comunicado técnico EMBRAPA. 2009.

CUNHA, F. F.; RAMOS, M. M.; ALENCAR, C. A. B.; MARTINS, C. E.; CÓSER, A. C.; OLIVEIRA, R. A. Sistema radicular de seis gramíneas irrigadas em diferentes adubações nitrogenadas e manejos. **Acta Scientiarum**. Agronomy Maringá, v. 32, n. 2, p. 351-357, 2010.

CUNHA, E. Q.; STONE, L. F.; MOREIRA, J. A. A.; FERREIRA, E. P. B.; DIDONET, A. D.; LEANDRO, W. M. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho. I – Atributos físicos do solo. **Rev. Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 35, p. 589-602. 2011.

DAMANE, D. B. **Vulnerabilidade ambiental e atributos do solo nas sub Bacias do Rio das Pedras e Baixo Anhumas**. Dissertação de mestrado. PUC-Campinas 136p. 2016.

DAVANTEL, M. G. **Avaliação da digestibilidade in situ de duas espécies de leguminosas utilizadas em recuperação de áreas degradadas**. Dissertação de mestrado. Pontifícia Universidade Católica de Goiás-Programa de Ecologia e Produção Sustentável, Goiânia, 67p. 2015.

DÁVILA, G. B. G. 2013. **Estudo de flotação convencional em bancada do lodo da carbonífera cricúma**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de Engenharia, programa de pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de materias-PPGG3M. Porto Alegre. p.26, 177. 2013.

DE OLIVEIRA B.; MARIMON-JUNIOR B. H.; SANTOS C. O.; MORANDI, P. S. **Carvão vegetal pirogênico (Biochar) como condicionante de substrato para germinação e sobrevivência de mudas de carvoeiro** (*Tachigali paniculata* Aubl.). 2^a Jornada Científica UNEMAT, 5p. out. 2009.

DEVEREUX, R. C.; STURROCK, C. J.; MOONEY, S. J. The effects of biochar on soil physical properties and winter wheat growth. **Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh**, v. 103, p. 13–18, 2012.

DIAS, L. E.; MELO, J. W. V. **Recuperação de áreas degradadas**. Viçosa, 251p. 1998.

- DIAS, P. F.; SOUTO, S. M.; CORREIA, M. E. F.; RODRIGUES, K. de M.; FRANCP, A. A. Influencia de leguminosas arbóreas na macrofauna do solo em pastagem. **Soropédica**: Embrapa Agrobiologia-Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 12. 19p. 2006.
- DOCHERTY, K. M.; GUTKNECHT, J. L. M. The role of environmental microorganisms in ecosystem responses to global change: current state of research and future outlooks - Springer. **Biogeochemistry**, v. 109, n. 1-3, p. 1-6. 2012.
- DODOR, D.; TABATABAI, A. Effect of cropping systems of phosphatases in soils. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 166, p. 7-13. 2003.
- DOMINGOS, M. *et al.* Produção de serapilheira e retorno de nutrientes em um trecho de Mata Atlântica secundária, na Reserva Biológica de Paranapiacaba, SP. **Brazilian Journal of Botany**, v. 20, n. 1, p. 91-96. 1997. ISSN 0100-8404.
- DONADELLI, A.; TURCO, P. H. N.; KANO, C; TIVELLI, S. W.; PURQUERIO, L. F. V. Rentabilidade e custo de produção do quiabeiro consorciado com adubos verdes. **Horticultura Brasileira**, V. 28, n. 2. 2010.
- DUCEY, T. F.; NOVAK, J. M.; JONSON, M. G. Effects of Biochar Blends on Microbial Community Composition in Two Coastal Plain Soils. **Agriculture**, v.5, p.1060-1075. 2015.
- EMBRAPA. **Ecologia da Rizosfera e Filosfera**. 2018. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/unidade/index.php3?id=228&func=unid> . Acesso em: 12 maio. 2018.
- ERASMO, E. A. L.; AZEVEDO, W. R.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, A. M.; GARCIA, S. L. R. Potencial de espécies utilizadas como adubo verde no manejo integrado de plantas daninhas. Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa-MG. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 337-342. 2004.
- FABIAN, A. J. **Plantas de cobertura: efeito nos atributos do solo e na produtividade de milho e soja em rotação**. Tese (doutorado) –

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 99p. Jaboticabal, 2009.

FAKRUDDIN, M.; MANNAN, K. S. B. Methods for analyzing diversity of microbial communities in natural environments. **Ceylon Journal of Science**, v. 42, n. 1, p. 19-33. 2013.

FARIAS, L.N.; SILVA, E. M. B.; SOUZA, W.P.; MARCELLA K. C. VILARINHO, T.J. SILVA, A.; GUIMARÃES, S.L. Características morfológicas e produtivas de feijão guandu anão cultivado em solo compactado. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.17, n.5, p.497–503. 2013.

FEIL, N. F.; NETO, F. J. K. Produção conjunta no processo de beneficiamento de carvão mineral: custos conjuntos. **Produto & Produção**, v. 9, n. 2, p. 136-152, 2008.

FIALHO, C. M. T. **Interação entre micro-organismos do solo, plantas daninha e as culturas do milho e da soja**. Tese de doutorado UFV. Viçosa, MG. 75p. 2013.

FERNANDES, L. A.; Frações de fósforo e atividade da fosfatase ácida em plantas de feijoeiro cultivadas m solos de várzea. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 561-571, 2000.

FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 432p. 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, 35(6), p. 1039-1042. 2011.

FERREIRA, G. de A.; LOCATELLI, F. C. R.; SOUSA, H. M.; ALICIA, B.; SPERATTI, A. M.; CAMPOS, D. T. S.; COUTO, E. G. **Determinação da atividade da enzima β -Glicosidase em Neossolo Quartzarênico com uso de diferentes tipos de biocarvão**. XXXV Congresso brasileiro de ciências do solo: O solo e suas múltiplas funções. Natal- RN. 2015.

FILHO, J. R. A. **Avaliação ambiental e do potencial de aproveitamento de um módulo de rejeitos de carvão na região carbonífera de Santa Catarina**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em

Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90p. 2009.

FILHO, O. F. L.; AMBROSIANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. Adubação verde e plantas de coberturas no Brasil: **Fundamentos e prática**. Embrapa, v.1 Brasília-DF 507p. 2014.

FLORENTÍN, M. A.; PEÑALVA, M.; CLEGARI, A.; DERPSCH, R. **Green manure/cover crops and crop rotation in conservation agriculture on small farms**. Rome: FAO, 97p (integrated crop management, 12), 2011.

FREITAS, O.; FELIPE DE, A.; SOUZA, L. A. G.DE; CARDOSO, I. M.; PAIVA, H. N. Fino de carvão vegetal em substrato para produção de mudas de Dipteryx. **Rev. Bras. de Agroecologia**. v. 9, n.3, p. 31-40 2014.

FRIPP, J.; ZIEMKIEWICS, P. F.; CHARLAVORK, H. (2000). **Acid mine drainage treatment**. In: EMRRP Technical Notes Collection. U.S. Army Engineer Research and Development Center, Vicksburg, MS, p. 1-7, 2000.

FUNGARO, D. A.; IZIDORO, J. C. Remediação de Drenagem Ácida de Mina Usando Zeólitas Sintetizadas a Partir de Cinzas Leves de Carvão. In: **Química Nova**, v. 29, n. 4, 18 abr. p. 735-740, 2006.

GANDRA, A. **Centro pesquisará tratamento adequado aos rejeitos de carvão em Santa Catarina**. Agência Brasil, 13 out. 2007.

GASPARIM, E.; RICIÉRE, R. P.; SILVA, S. de L.; DELLACORT, R. GNOATTO, E. Temperatura no perfil do solo utilizando duas densidades de cobertura e solo nu. **Acta Scientiarum**. Agronomy Maringá, v. 27, n. 1, p. 107-115, Jan./March, 2005.

GELSOMINO, A. *et al.* Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 38, n. 1–2, p. 1–15. 1999. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012\(99\)00054-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012(99)00054-8)>.

GLAZER, A. N.; NIKAIDO, H. **Microbial Biotechnology: Fundamental of Applied Microbiology**. California: University of California, 576 p. 2007.

GTA - Grupo Técnico de Assessoramento. **5º Relatório de Monitoramento dos Indicadores Ambientais**. Criciúma: Portal da Ação Civil Pública do Carvão. 2011.

HAMDANI, S. A. F.; AON, M.; ALI, L.; ASLAM, Z.; KHALID, M.; NAVEED, M. R. Application of Dalbergia sissoo biochar enhanced wheat growth, yield and nutrient recovery under reduced fertilizer doses in calcareous soil. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v.54, n.1, p.107-116. 2017.

HAMMER, O. Reference Manual PAST. **Natural History Museum**, Oslo: University of Oslo. 2017.

HEADLEE; W. L.; BREWER, C. E.; HALL, R. B. Biochar as a substitute for vermiculite in potting mix for hybrid poplar. **Bioenergy Resources**. v. 7, p.120–131. 2014.

HENOK A. B. Phasing Out Fossil Fuel Subsidies in the G20: **Progress, Challenges, and Ways Forward**. Max Planck Institute Luxembourg, International, ed. Climate and energy. Centre for Trade and Sustainable Development-ICTSD, Switzerland 2017.

<https://www.ictsd.org/themes/climate-and-energy/research/phasing-out-fossil-fuel-subsidies-in-the-g20-progress-challenges>

HUGENHOLTZ, P. Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. **Genome Biology**, v. 3, n. 2, p.01-29 2002. ISSN 1465-6906. Disponível em: <http://www.genomebiology.com/2002/3/2/reviews/0003>.

IGALAVITHANA, A. D.; LEE, SUNG-EUN.; LEE, Y. H.; TSANG, D. C. W.; RINKLEBE, J.; KWON, E. E.; OK, Y. S. Heavy metal immobilization and microbial community abundance by vegetable waste and pine cone biochar of agricultural soils. **Chemosphere Science Direct**, v. 174, p. 593-603, 2017.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY-IDEA. **World Energy Outlook-WEO**. 14p. France. 2011.

http://www.worldenergyoutlook.org/media/weowebsite/2011/s_portuguese.pdf

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY-IEA. **World Energy Outlook- WEO**. 14p. France, 2012. Disponível em: <http://www.iea.org/publications/freepublications/publication/Portuguese.pdf>

IPPOLITO, J. A. ; DUCEY, T. F. ; CANTRELLI, K. B. ; NOVAK, J. M. ; LENTZ, R. D. Designer acidic biochar influences calcareous soil characteristics. **Chemosphere**, v. 142. p. 184-191. January 2016.

JEFFERY, S.; VERHEIJEN, F. G. A.; VAN DER VELDE, M.; BASTOS, A. C. A. quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 144, p. 175-187. 2011.

JESUS, E. C.; MARSH, T. L.; TIEDEJE, J. M.; MOREIRA, F. M. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. **ISME Journal**, v. 3, n. 10, p. 1004-1011. 2009. ISSN 1751-7362. <http://www.nature.com/ismej/journal/v3/n9/full/ismej200947a.html>

JOSEPH, S.; CAMPS-ARBESTAIN, M.; LIN, Y.; MUNROE, P.; CHIA, C. H.; HOOK, J.; VAN ZWIETEN, L.; KIMBER, S.; COWIE, A.; SINGH, B. P.; LEHMANN, J.; FOIDL, N.; SMERNIK, R. J.; AMONETTE, J. E. An investigation into the reactions of biochar in soil. **Australian Journal of Soil Research**, v. 48, p. 501-515. 2010.

JÚNIOR, P. I. F.; REIS, V. M. **Algumas limitações à fixação biológica de nitrogênio em leguminosas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 33p. 2008. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 252).

JUNIOR, S. D. da S. **Qualidade física de um latossolo vermelho sob plantio direto submetido à descompactação mecânica e biológica**. Dissertação de mestrado. Escola superior de agricultura Luiz de Queiros ESALQ/USP Piracicaba 64p. 2012.

KÄMP, N.; SCHNEIDER, P. S.; GIASSON, E. Propriedades, pedogenese e classificacao de solos construidos em areas de mineracao na bacia Carbonifera do baixo Jacui (RS). **Rev. Bras. de Ciência do Solo**, Campinas, v.21, n.1, p.79-88. 1997.

KOLLING, A. V. **Biolixiviação para o aproveitamento da pirita presente em carvão mineral**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Escola de

Engenharia, programa de pós-graduação em Engenharia de Minas Metalúrgica e de Materias-PPGG3M. Porto Alegre, p.16, 190p. 2014

KOOKANA, R.; SARMAH, A.; VAN ZWIETEN, L.; KRULL, E.; SINGH, B. Biochar application to soil: agronomic and environmental benefits and unintended consequences. **Advances in Agronomy**, v.12, 40p. p. 103-43. 2011.

KREBS, A. S. J. **Contribuição ao conhecimento dos recursos hídricos sub-terreos da Bacia Hidrográfica do Rio Araranguá, SC**. Tese de Doutorado em Geografia - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 375p. 2005.

Kruskal, J. B. Nonmetric multidimensional scaling: a numerical method. *Psychometrika*, 29(2).1964 b.

LAMBAIS, M. R. *et al.* Diversidade microbiana nos solos: Definindo novos paradigmas. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L. R. F., *et al* (Ed.). Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa: ed. da **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.4, p. 43-84. 2005.

LAMBERS, H.; SHAVER, G.; RAVEN, J. A. SMITH, S. E. N and Pacquisition change as soils age. **Trends Ecol Evol**, v. 23 p. 95–103. 2008.

LAMBERS, H.; MOUGEL, C.; JAILLARD, B.; HINSINGER, P. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. **Plant soil**. v . 321, p.83-115, june. 2009.

LEHMANN, J.; da SILVA Jr. J. P.; STEINER, C.; NEHLS, T.; ZECH, W.; GLASER, B. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. **Plant and Soil**, v. 249, p. 343-357. 2003.

LEHMANN, J. Bioenergy in the black. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 5, p. 381-387. 2007.

LEHMANN, L.; JOSEPH S. **Biochar for environmental management: science and technology**. Earthscan, London, UK, p. 85 – 102, 449 p. 2009.

LEHMANN, J., RILLIG, M. C.; THIES, J.; MASIELLO, C. A.; HOCKADAY, W. C.; CROWLEY, D. Biochar effects on soil biota – A review. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 43, p. 1812-1836. 2011.

LIANG, B.; LEHMANN, J.; SOLOMON, D.; KINYANGI, J.; GROSSMAN, J.; O'NEILL, B.; SKJEMSTAD, J. O.; THIES, J.; LUIZÃO, F. J.; PETERSEN, J.; NEVES, E. G. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. **Soil Science Society of American Journal**, v. 70, p. 1719-1730. 2006.

LIMA, N. C. D. J. **Relações filogenéticas em *Ganoderma* p. Karst. (basidiomycota) baseadas em sequências do dna ribossomal.** (Mestrado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco. 69p. 2012.

LIMA, S. L.; MARIMONJUNIOR, B. H.; PETTER, F. A.; TAMIOZZO, S.; BUCK, G. B.; MARIMON, B. S. Biochar as substitute for organic matter in the composition of substrates for seedlings. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, p. 333-341. 2013.

LIMA, S. L.; TAMIOZZO, S.; PALOMINO, E.C.; PETTER, F. A.; MARIMONJUNIOR, B. H. Interactions of biochar and organic compound for seedlings production of *Magonia pubescens* A. St. Hi. **Árvore**, v.39, p. 655-661. 2015.

LIMA, S.; L.; JUNIOR, B. H. M.; SANTOS, B. da SILVA. M.; REIS, S. M.; PETTER, F. A.; VILAR, C. C.; MARIMON. B. S. Biochar in the management of nitrogen and phosphorus to produce angico seedlings. **Pesquisa agropecuária brasileira**. v.51, n. 2, Brasília. 2016.

LOPES, R. P. et al. Estudos geoquímicos e estruturais aplicados a recuperação de área degradada pela mineração de carvão: Campo Morozini. In: Encontro nacional de minérios e metalurgia extrativa, 10. 2004. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, v. 1, p. 697-706. 2004.

LOPES, R. P.; SANTO, E. L.; GALLATO, S. L. Mineração de carvão em Santa Catarina: Geologia, Geoquímica e impactos ambientais. In: MILIOLI, G; SANTOS, R; CITADINI-ZANETTI (org.). **Mineração de carvão, meio ambiente e desenvolvimento sustentável no Sul de Santa Catarina: Uma abordagem interdisciplinar.** Curitiba: Juruá. 2009.

MADARI, B. E.; SOMBROEK, W. G.; WOODS, W. I. Research on Anthropogenic Dark Earth soils. Could it be a solution for sustainable agricultural development in the Amazon. **Amazonian Dark Earths: Explorations in Space and Time**, p. 170-181. 2004.

MADARI, B. E. *et al.* Matéria orgânica dos solos antrópicos da Amazônia (terra preta de índio): suas características e papel na sustentabilidade da fertilidade do solo. In: TEIXEIRA, W. G. et al. (Eds.). As terras pretas de índio da Amazônia: sua caracterização e uso deste conhecimento na criação de novas áreas. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, p.286-296. 2009. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/684554>>. Acesso em: **21 jul. 2014.**

MAIA C. M. B. F. Produção de biocarvão a partir de diferentes fontes de biomassas. **IX Encontro brasileiro de substâncias húmicas-EBSH**. Embrapa, Aracajú Sergipe, 4p. out. 2011.

MAJOR, J.; RONDON, M.; MOLINA, D.; RIHA, S.J.; LEHMANN, J. Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna Oxisol. **Plant and Soil**, v. 333, p. 117–128. 2010.

MAPA DE CONFLITOS ENVOLVENDO INJUSTIÇA AMBIENTAL E SAÚDE NO BRASIL-MCEIASB. Poder arraigado da mineração carbonífera em Santa Catarina é empecilho à recuperação ambiental de áreas degradadas e cursos de água que sofrem os efeitos da acidificação. **Crescimento das usinas termoeletricas é novo foco de poluição e consumo de carvão mineral**. Base de dados. 2009.

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). **Rev. Bras. Cienc. Solo**, Viçosa, v. 27, p. 425-433. 2003.

MENDES, A. F; VIEIRA, R. Gestão ambiental na indústria de mineração no Brasil: Técnicas para minimizar potenciais impactos ambientais na extração do cobre. IBEAS – Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais. **I Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Barueri, SP. 10p. nov. 2010. <http://www.ibeas.org.br/congresso/Trabalhos2010/XI-009.pdf>

MENDES, R. et al. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science**, v. 332, n. 6033, p. 1097-100. 2011.

MENDONÇA, R. M. G.; SOARES, P. S. M.; HUYSSTEEN, E. V. **Algumas considerações sobre os mecanismos de geração de drenagem ácida de rochas e medidas mitigadoras**. CETEM-Centro de Tecnologia Mineral. Rio de Janeiro. Brazil VI SHMMT I XVIII ENTMMME-2001-Rio de Janeiro/Brazil. 2001.

MERRIL L. The importance of the reform of subsidies to fossil fuels for development sustainable. International Centre for Trade and Sustainable Development-ICTSD, Switexerland, **Pontes**, v. 11, n. 4, 2015. <https://www.ictsd.org/sites/default/files/review/pontes11-4.pdf>

MIYAZAWA, M.; TISKI, I. Teores de N-NH₄⁺ no Solo em função de Fontes Nitrogenadas: Uréia e Uréia Revestida Por Policote. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: SBCS. 2011.

MIZOBATA, K. K. G. da Silva. **Avaliação do estado nutricional de mudas de Gonçalo Alves (Astronium Fraxinifolium)**. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Estadual Paulista (UNESP). Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. 40p. 2015.

MORAES, S. R. G. et al. Influência de leguminosas no controle de fitonematóides no cultivo orgânico de alface americana e de repolho. **Fitopatologia Brasileira**. Lavras, v. 31, n. 2, p. 188-191. 2006. https://www.researchgate.net/publication/258843993_Beneficios_com_a_utilizacao_de_adubos_verdes

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 625p. 2002.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, M. J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**: Editora. UFLA-2. Ed. Atual e ampli-Lavras 729p. 2006.

MORALES, M. M. **Efeito do biocarvão sobre o comportamento da matéria orgânica e fósforo em solo degradado**. Tese de doutorado Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Campus de Botucatu, 88p. 2010.

- MUKHERJEE, A.; LAL, R.; ZIMMERMAN, A. R. Effects of biochar and other amendments on the physical properties and greenhouse gas emissions of an artificially degraded soil. **Science of the Total Environment**, v. 487, p. 26–36. 2014.
- MUYZER, G.; DE WAAL, E. C e UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 695-700, Mar. 1993. Disponível em: <<http://dx.doi.org/>>.
- NASCIMENTO, F. M. F.; MENDONÇA, R. M. G.; MACÊDO, M. I. F.; SOARES, P. S. M. **Impactos Ambientais nos Recursos Hídricos da exploração de Carvão em Santa Catarina**. CETEM. Rio de Janeiro. 2002.
- NETO, M. R. H. **Atributos microbiológicos de um solo construído vegetado com gramíneas após mineração de carvão em Candiota/RS**. Dissertação de mestrado Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 96p. UFRGS Pelotas, Pelotas, RS. 2011.
- NICODEMO, M. L. F.; SOUZA, F. H. D.; PEZZOPANEL, J. R. M.; MENDES, J. C. T.; THOLON, P.; SANTOS, P. M.; Frequências de cortes em nove leguminosas forrageiras tropicais herbáceas cultivadas ao sol e sob plantação florestal. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.67, n.3, p. 809-818, São Carlos, SP. 2015.
- NGUYEN, C. Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. **Agronomie-Sciences des Productions Vegetales et de l' Environnement**, v. 23, n. 5-6, p. 375-396. 2003.
- NICOLEITE, E. R.; CAMPOS, M. L.; CITADINI-ZANETI, V.; SANTOS, R.; MARTINS, R.; SOARES, C. R. F. S. Mata Ciliar: **Implicações Técnicas sobre a restauração após mineração de carvão**. Criciúma: SATC. 80p. 2013.
- NIELSEN, U. N. et al. The influence of vegetation type, soil properties and precipitation on the composition of soil mite and microbial communities at the landscape scale. **Journal of Biogeography**, v. 37, n. 7, p. 1317-1328, 2010. ISSN 1365-2699.

NÓBREGA, I. P. C. **Efeitos do Biochar nas propriedades físicas e químicas do solo: Sequestro de carbono no solo.** Mestrado em Engenharia e Ambiente. Instituto Superior de Agronomia-Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 46p. 2011.

NOVAK, J. M.; CANTRELL, K. B.; WATTS, D. W.; BUSSCHER, W. J.; JOHNSON, M. G. Designing relevant biochars as soil amendments using lignocellulosic-based and manure-based feedstocks. **Journal of Soils and Sediments**, v. 14, p. 330–343. 2014.
<https://www.ars.usda.gov/ARSDocuments/2013/Man914.pdf>

NYQUIST, J.; GREGER, M. A field study of constructed wetlands for preventing and treating acid mine drainage. **Ecological Engineering-Elsevier**, v. 35, p. 630-642. 2009.

OMIL, B.; PIÑEIRO, V.; MERINO, A. Soil and tree responses to the application of wood ash containing charcoal in two soils with contrasting properties. **Forest Ecology and Management**, v. 295, p.199–212. 2013.

OVREÅS, L. et al. Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 9, p. 3367-3373. 1997. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/63/9/3367>>.

PADOVAM, M. P. Adubação verde: uma prática eficiente e econômica para recuperar manter e melhorar a capacidade produtiva dos solos. Embrapa Agropecuária Oeste. Dourados MS. **Jornal dia de campo**. 23 setembro. 2010.

PELT-VERKUIL, E.; VAN BELKUM, A.; HAYS, J. P. **Principles and technical aspects of PCR amplification.** Springer, 332p. 2008.

PASSIOURA, J. B. Soil structure and plant growth. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 29, p. 717-728, 1991.

PEREIRA, J. de C. N. **Identificação de bactérias da rizosfera de inhame, macaxeira e batata-doce potencialmente produtoras de polihidroxialcanoatos.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco-UFP. Vitória de Santo Antão, 52p. 2013.

PEREIRA, D. S.; MATOS, G. S. V.; MATOS, A. S. P. Influência da cobertura morta no controle da temperatura e na manutenção da umidade do solo no cultivo de feijão fradinho (*Vigna unguiculata* L.). In: SEMINÁRIO BAIANO DE SOLOS, 2. Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: PET Solos, p. 1-2. 2013.

PEREIRA, V. C.; ESPINOLA S. J.; BEZERRA, J. R. C.; MOURA, M. S. B.; BORGES, V. P.; SANTOS, W. O. Saldo de radiação e fluxo de calor no solo nas diferentes fases de desenvolvimento da cultura do algodoeiro na Chapada do Apodi, RN. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 17. Guarapari. **Anais eletrônicos...** Sete Lagoas, Sociedade Brasileira de Agrometeorologia, p. 1-5. 2011.

PETRY, G. L. **Atividade fitotóxica de extratos e exsudatos radiculares de *Guilandina bonduc* (Fabaceae)**. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília-Brasília, DF. 106p. 2015.

PETTER, F. A.; MADARI, B. E.; SILVA, M. A. S.; CARNEIRO, M. A. C.; CARVALHO, M. T. .; MARIMON JR, B. H.; PACHECO, L. P. Soil fertility and upland rice yield after biochar application in the Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 5, p. 699-706. 2012a.

PETTER, F. A.; ANDRADE, F. R.; JUNIOR, B. H. M.; GONÇALVES, L. G.; SCHOSSLER, T. R. Biochar como condicionador de substrato para a produção de mudas de eucalipto. **Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 4, p. 44-51. 2012b.

PETTER, F.A; MADARI, B. A Biochar: agronomic and environmental potential in Brazilian savannah soils. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.** v. 16 n. 7. 2012.

PINTO, A. L. **Estrutura de comunidades microbianas do solo em áreas de restinga preservadas do Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis, SC.** Trabalho de Conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC. Florianópolis, 100p. 2015.

PLUCHON, N.; GUNDALE, M. J.; NILSSON, M. C.; KARDOL, P.; WARDLE, D. A. Stimulation of boreal tree seedling growth by wood-derived charcoal: effects of charcoal properties, seedling species and soil fertility. **Functional Ecology**, v. 28, p. 766-775. 2014.

POLZ, J. A Recuperação de áreas impactadas pela mineração de carvão a céu aberto em Santa Catarina: Gestão de rejeitos e vegetação. In: SOARES, P. S. M.; SANTOS, M. D. C.; POSSA, M. V. **Carvão brasileiro: tecnologia e meio ambiente**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT. 2008.

POSSA, M. V.; SOARES, A. B.; SOUZA, V. P.; SOARES, P. S. M. Construção e Operação da Estação Experimental Juliano Peres Barbosa: **Estudo em escala piloto para avaliação do desempenho de coberturas secas na mitigação da drenagem ácida de mina – DAM**. (Série Tecnologia Ambiental, 76). Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 47p. 2014.

PUPIN, B. **Propriedades microbiológicas do solo alteradas por compactação**. Dissertação de mestrado, UNESP–Jaboticabal-SP. 78p. 2008.

RACHID, C. T. C. C. *et al.* Physical-chemical and microbiological changes in Cerrado Soil under differing sugarcane harvest management systems. **BMC Microbiology**, v.12, n. 1, p. 170, 2012.

RASTOGI, G.; SANI, R. K. Molecular techniques to assess microbial community structure, function, and dynamics in the environment. In: AHMAD, I.; SUTRA, A., *et al* (Ed.). **Microbes ad Microbial technology**. California: Springer Science, p.29-57. 2011.

REZENDE, F. A.; SANTOS, V. A. H. F.; MAIA, C. M. B. F.; ROSALINO, T. Formação de mudas de teca (*Tectona grandis* L. f.) a partir de substrato composto com biocarvão. **X Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**. Embrapa Arroz e Feijão, Goiânia, Goiás, p.332-335. 2013.

ROCHA, E. *et al.*, Monitoramento da vegetação em áreas alteradas pela mineração de carvão na bacia carbonífera catarinense, Santa Catarina. In: Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 23, 2009, Gramado. **Anais...**Gramado: ENTMME. p. 697 – 704. 2009.

ROCHA, D. A. G. **Fungos micorrizicos arbusculares e biocarvão no crescimento de mudas de bracatimbas (*Mimosa scabrella*) e cedro (*Cedrela fissilis*) em solo de áreas de mineração de carvão**. Dissertação de mestrado programa de pós- graduação em Recursos Genéticos Vegetais Universidade Federal de Santa Catarina- Florianópolis 108p. 2016.

ROCHA, J. M. L.; dos SANTOS, A. C.; JUNIOR, O. S.; da SILVA, R. R.; dos SANTOS, J. G. D.; de OLIVEIRA, L. B. T. Características agrônômicas do milho sob o efeito de nitrogênio nos sistemas consorciados e

monocultivos. **Tecnol. & ciên. Agropec.** João Pessoa, v. 11, n. 1, p.37-43, 2017.

RODRIGUES, J. A. F.; LESNISK, R. L.; ANJOS, J. A. S. A.; ARAÚJO, P. S. R.; RODRIGUES, L. S. M. Cenários e perspectivas às pequenas empresas no setor carbonífero: crítica as novas diretrizes do conselho nacional de política energética. **Anais do IV Congresso Brasileiro de Carvão mineral.** Gramado R. G. do Sul. p33.1007p. 2013.

RONDON, M. A.; LEHMANN, J.; RAMÍREZ, J.; HURTADO, M. Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with bio-char additions. **Biology Fertility Soils**, v. 43, p. 699-708. 2007.

SACCO, L. P. **Isolamento de bactérias produtoras de enzimas de interesse em processos biotecnológicos.** Dissertação de mestrado Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 47p. 2013.<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94874/000737304.pdf?sequence=1>

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual.** Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2 ed., v. 3. New York, 3104p. 1989.

SAMINÊZ, T. C. O.; RESENDE, F. V.; SOUZA, A. F.; CARVALHO, A. M. **Comportamento de espécies de adubos verdes sob sistema orgânico de produção nas condições de verão dos cerrados.** Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970, Brasília-DF. Embrapa Cerrados. 2002.

SAMPAIO, C, A. de. **Avaliação da recuperação de área degradada por meio de indicadores ambientais biológicos e pedológicos na APE Mutuca, Nova Lima.** Dissertação de mestrado-UFMG Belo Horizonte-MG. 132p. 2006.

SANTALLA, M.; OMIL, B.; RODRÍGUEZ-SOALLEIRO, R.; MERINO, A. Effectiveness of wood ash containing charcoal as a fertilizer for a forest plantation in a temperate region. **Plant Soil**, v. 346, p. 63–78. 2011.

SANTOS, M. A. **O crescimento e crise na região sul de Santa Catarina ed. da UDESC.** Florianópolis, 191p. 1995.

SANTOS, L. C. **Crescimento inicial de leguminosas forrageiras tropicais inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio.** Dissertação de mestrado-Universidade Estadual de Santa Cruz, ILHÉUS, BAHIA – BRASIL. 52p. 2008.

SANTOS, K. C. F.; SILVA, M. S. L.; SILVA, L. E.; MIRANDA, M. A.; FREIRE, M. B. G. S. Atividade biológica em solo salino sódico saturado por água sob cultivo de *Atriplex nummularia*. **Ciência Agrônômica**, v. 3, p. 619-627. 2011.

SANTOS, J. L. S.; MADARI, B. E.; PETTER, F. A.; BORGES, C. D.; MENDES, L. W.; TSAI, S.M. Efeito do biocarvão na estrutura de comunidades bacterianas no solo e sistema radicular de soja (*G. max*). Doutorado em agronomia Escola de Agronomia UFG-Universidade Federal de Goiás e EMBRAPA Goiás, 5p. 2012.

SANTOS, J. L. S.; MADARI B. E.; TSAI, S. M. **Efeito do biocarvão após seis anos de cultivo de soja (*Glycine max* L.) na biomassa microbiana do solo, em Cerrado.** X Encontro brasileiro de substâncias húmicas-EBSH. UFG e Embrapa de Goiás. Goiás, p.348 – 350 3p. 2013 a.

SANTOS, J. L.; BORGES, C. D.; CALDAS, D. G. G.; TSAI, S. M.; MADARI, B. E. Efeito do biocarvão nas comunidades bacterianas, estrutura do solo e sistema radicular de soja (*G. max*). **In: seminário jovens talentos**, 7. Santo Antônio de Goiás 2013. Embrapa Arroz e Feijão, 2013b.

SANTOS, V. M.; MAIA, L. C. Bioindicadores de qualidade do solo. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 10, p.195-223, 2013.

SANTOS, F. S.; JUNIOR, L. A. Z.; SECCO, D.; DIAS, P. P.; TOMASSONI, F.; PEREIRA, N. A utilização de plantas de cobertura na recuperação de solos compactados. **Rev. Acta Iguazu**, Cascavel, v.3, n.3, p. 82-91, 2014.

SANTOS, J. V. et al. Biological attributes of rehabilitated soils contaminated with heavy metals. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-14, 2015.

SCHNEIDER, C. H. **Caracterização do impacto ambiental e tratamento de drenagem ácida de Minas com Resíduos alcalinos na mineração de carvão de Santa Catarina:** Mina Um II Verdinho, Criciúma. Dissertação

de Mestrado. Escola de Engenharia Programa de pós graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais – PPGE, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 128p. 2006.

SCHULZ, H. DUNST, G.; GLASER, B. Positive effects of composted biochar on plant growth and soil fertility. **Agronomy for Sustainable Development**, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, v. 33, n 4, p. 817-827, 2013.

SEIXAS, F. Compactação do solo devido à mecanização florestal: Causas, Efeitos e Práticas de Controle. IPEF: Filosofia de trabalho de uma elite de empresas florestais brasileiras ISSN 0100-3453 **Circular técnica** n. 163, 10p.1988.

SIGMUND, G. POYNTNER, C.; PIÑAR.G.; KAH, M.; HOFMANN, T. Influence of compost and biochar on microbial communities and the sorption/degradation of PAHs and NSO-substituted PAHs in contaminated soils. Rev. **Journal of Hazardous Materials**, v. 345 p.107–113. 2018.

SILVA, M. L.N.; BLANCANEUAX, O.; CURI, N.; LIMA, J. M. de; MARQUES, J. J. G.; de; CARVALHO, M. A. M. de. **Estabilidade e resistência de agregados de latossolo vermelho-escuro cultivado com sucessão milho adubo-verde**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF, v. 33, n.1, p. 97-103, 1998.

SILVA, S. R. **Efeitos da compactação sobre características físicas, químicas e microbiológicas de dois latossolos e no crescimento de eucalipto**. Tese de doutorado, UFV- Viçosa, 97p. 2005.

SILVA, A. P. M.; VIANA, J. P.; CAVALCANTE, A. L. B. **Resíduos Sólidos da Atividade de Mineração. Caderno de Diagnóstico (Versão Preliminar)**. Plano Nacional de Mineração 2030. Brasília: Ipea. 2011.

SILVA, M. B.; KLIEMANN, H. J.; SILVEIRA, P. M.; LANNA, A. C. Atributos biológicos do solo sob influência da cobertura vegetal e do sistema de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1755-1761. 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2007001200013>

- SILVA, K. J.; VIDAL-TORRADO, P.; LAMBAIS, M. R. Bacterial and archaeal communities in bleached mottles of tropical podzols. **Microbial Ecology**, v. 69, n. 2, p. 372-82. 2015.
- SILVA, E. P. **Atributos do solo e comunidades microbianas associadas à bracatiga (*Mimosa scabrella* Benth.) em áreas de mineração de carvão em recuperação.** Dissertação de mestrado, centro de ciências agrárias (CCA)-UFSC, Florianópolis-SC. 101p. 2016.
- SILVA, R. V. **Biochar, fungos micorrízicos e adubação verde no cultivo do mamoeiro.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes – RJ. 103p. 2017.
- SILVA, I. C. B.; FERNANDES, L. A.; COLEN, F.; SAMPAIO, R. A. Growth and production of common bean fertilized with biochar. **Ciência Rural**, v.47: n. 11, 8p. Santa Maria. 2017 a.
- SILVA, M. I.; CHERYL, M.; MINOGUE, P.; FERREIRA, A. R.; da VEIGA, M.; EDERLON, F. Potential impacts of using sewage sludge biochar on the growth of plant forest seedlings. **Ciência Rural**, v.47 n.1, p.1-6, Santa Maria. 2017 b.
- SILVA, G. G. C.; MEDEIROS, P. L.; SANTOS, A.Y.O.; OLIVEIRA, E. M. M.; PIMENTA, A. S. Uso do biochar para fins agrícolas: Principais vantagens. II congresso internacional de diversidade do semiárido. UFB- Universidade Estadual da Paraíba. **Conidis**. 11p. Campina Grande-PB. 2017c.
- SMELTZER, D. L. K.; BERGDHAL, D. R.; DONNELLY, J. R. Forest ecosystem responses to artificially induced soil compaction. II. Selected soil microorganism populations. **Canadian Journal of Forest Research**, v.16, p. 870-872. 1996.
- SMITH, J. L.; COLLINS, H. P.; BAILEY, V. L. The effect of young biochar on soil respiration, **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2345-2347. 2010.
- SOARES, P. S. M.; TRINDADE, R. B. E. 2002. Recuperação ambiental de áreas mineradas: uma experiência de gestão. **XIX Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa**. v. 2, p. 233-239 nov. 2002.

SOARES, T.G. **Produção de palhada e reciclagem de nutrientes de leguminosas e gramíneas para implantação do sistema plantio direto no Nordeste paraense**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém. 2006.

SOARES, A. C. F.; SOUSA, C, da S.; GARRID, M. da SILVA,; LIMA, F. de SOUZA. Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição de mudas de jenipapeiro. *Ciência. Agronômica*. v. 43 n.1 Fortaleza Jan./Mar. 2012.

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. **Comissão de Química e Fertilidade do Solo Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina / Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. 10. ed. Porto Alegre, 400 p. 2004.

Sociedade Brasileira de Ciência do Solo-SBCS. **Manual de Calagem e Adubação para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Núcleo Regional Sul Universidade do Oeste de Santa Catarina-Unoesc/Xanxerê-Xanxerê-SC. 2016.

SOHI, S. P.; KRULL, E.; LOPEZ-CAPEL, R.; BOL, A. Review of biochar and its use and function in soil. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in Agronomy**. Burlington: Academic Press, p.47-82. 2010.

SOLLA-GULLON, F.; SANTALLA, M.; RODRIGUEZ, R.; MERINO, A. Nutritional status and growth of a young *Pseudotsuga menziesii* plantation in a temperate region after application of wood-bark ash. **Forest Ecology and Management**, v. 237, p. 312–321. 2006.

SOUCHIE F. F.; JUNIOR B. H. M.; PETTER F. A.; MADARI B. E.; MARINON B. S.; LENZA, E. Carvão pirogênico como condicionante para substrato de mudas de *Tachigali vulgaris* L.G. Silva & H.C. Lima. UNEMAT. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 4, p. 811-821, out.-dez. 2011.

SOUSA, A. A. T. C. **Biochar de lodo de esgoto: efeitos no solo e na planta no cultivo de rabanete**. Dissertação de mestrado, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília. 63p. 2015.

SOUZA, V. P. **Drenagens ácidas do estéril piritoso da mina de Urânio de Poços de Caldas: Interpretação e implicações ambientais**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São, Paulo, 172p 1995.

SOUZA V. P.; SOARES, P. S. M.; RODRIGUES, F. S.; 2001. **Acid rock drainage I** – Laboratory studies on acid generation from a coal mine Overburden. Proceeding of the VI Southern Hemisphere Meeting on Mineral Technology, v. 12, Rio de Janeiro, Brazil, May, p. 603–608. 2001.

SOUZA, D. G. de. Bactérias diazotróficas em solos reconstruídos após a mineração de carvão na bacia carbonífera catarinense. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Santa Catarina-UDESC, Lages – SC 103p. 2011.

SPIAZZI, F. R. **Análise Geoestatística de atributos químicos e físicos do solo em áreas construídas após mineração de carvão no município de Lauro Muller, SC**. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo). Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC. Centro de Ciências Agroveteriárias-CAV. Lages, SC, 97p. 2011.

SPOKAS, K. A.; KOSKINEN, W. C.; BAKER, J. M.; REICOSKY, D. C. Impacts of woodchip biochar additions on greenhouse gas production and sorption/degradation of two herbicides in a Minnesota soil. **Chemosphere**, v. 77, p. 574–58. 2009.

STEINER, C.; TEIXEIRA, W.G.; LEHMANN, J. ; NEHLS, T.; MACÊDO, J. L. V. de; BLUM, W.E. H. ; ZECH, W. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. **Plant and Soil**, v. 291, p. 275-290. 2007.

STEVENSON, F. J. & COLE, M. A. **Cycles of the Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients**, ed. 2, John Wiley and Sons, Inc, New York, NY, 448p. 1999.

STRECK, C. D. A.; IGLESIAS, C. M. F.; MIGLIAVACCA, D. M.; ZOCHE, J. J.; HASENACK, H. **Avaliação da Qualidade das Águas Superficiais da Bacia do Arroio Candiota – RS** Utilizando Sistemas de Informação Geográfica. Porto Alegre. 2001.

SULZBACH, S. T. **Biorreatores a base de biocarvão para a remoção de sulfato e elementos-traço em águas de drenagem**

ácida de mina. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina – Programa de pós graduação em Biotecnologia e Biociências. Florianópolis. 94p. 2015.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. “**Plant Physiology**” 5 Edition, Sinauer Associates, Inc, USA. 2010.

TEDERSOO, L. *et al.* Global diversity and geography of soil fungi. **Science**, v. 346, n. 6213, p. 1078-1089, 11p. 2014.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEM, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais.** 2ª ed. Porto Alegre: Boletim técnico, 5, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 174p.1995.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S0100-683201500010010900025&lng

TEODORO, R. B.; LUIZ DE OLIVEIRA, F.; NATAL DA SILVA, D. M.; FÁVERO, C.; QUARESMA, M. A. L. Leguminosas herbáceas perenes para utilização como cobertura permanentes de solo na Caatinga Mineira. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 2, p. 292-300. 2011.

THIES, J. E.; RILLIG, M. C. Characteristics of Biochar: biological Properties. In: LEHMANN, J.; JOSEPH, S. Biochar for environmental management: **Science and Technology.** London: Earthscan, p. 85-106. 2009.

TORÁCIO, M. de A. P.; GOETZKE, S. SABBI, L. de B. C. **Avaliação da palha no controle da erosão viária.** Cadernos da Escola de Saúde, Curitiba, v. 2. 2012. ISSN 1984-7041 2012.

TRAZZI, P. A. **Uso do biocarvão na produção de mudas e no crescimento inicial de *Pinus taeda* L.** Tese de Doutorado em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p9, 119p. 2014.

TRINDADE, R. B. E.; SOARES, P. S. M. **Cinzas de carvão no tratamento de efluentes.** CETEM-MCTI. In-the-mine. p51. 2013.

TSAI, W. T.; SII, C.; LIU, S. C.; HUEI, R.; CHEN, H. R.; CHANG, Y. M.; TSAI, Y. L. Textural and chemical properties of swine-manure-derived biochar pertinent to its potential use as a soil amendment. **Chemosphere**, v. 89, p. 198–203. 2012.

UZOMA, K. C.; INOUE, M.; ANDRY, H.; ZAHOOR, A.; NISHIHARA, E. Influence of biochar application on sandy soil hydraulic properties and nutrient retention. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 9, p. 1137-1143. 2011.

VAN ZWIETEN, L.; KIMBER, S.; MORRIS, S.; CHAN, Y. K.; DOWNIE, A.; JOSEPH, S.; COWIE, A. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility, **Plant Soil**, p. 327-235. 2010.

VENDRUSCOLO, E. P.; LEAL, A. J. F.; ALVES, M. C.; SOUZA de. E. J.; FILHO, S. N. S. Atributos químicos de solo degradado em função da adoção de biochar, culturas de cobertura e residual da aplicação de lodo de esgoto, **Ciência Agrária**. v. 59, n. 3, p. 235-242, jul./set. 2016.

VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root nodule bacteria**. London: **International Biological Programme**, (IBP Handbook, 15). 164p. 1970.

VITAL, A. F. M.; SANTOS, D.; SANTOS, R. V. Características agronômicas do milho adubado com diferentes fontes orgânicas. **Agrotec**, v. 36, n. 3, p. 303-309. 2015.

WARNOCK D.D.; LEHMANN J.; KUYPER T.W.; RILLIG M. C. Mycorrhizal responses to biochar in soil—concepts and mechanisms. **Plant and Soil**, v. 300, P. 9–20. 2007.

WHITE, T. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H. J. J., *et al.* (Ed.). **Book Protocols: A guide to methods and applications**. New York: Academic Press, p.315-322. 1990.

WU, H.; ZEMG, G.; LIANG, J.; CHEN, J.; XU, J.; DAI, J.; LI, X.; CHEN, M.; XU, P. ; ZHOU, Y.; LI, F.; HU, L.; WAN, J. Responses of bacterial community and functional marker genes of nitrogen cycling to biochar,

composted and combined amendements in soil. **Applied Microbiology & Biotechnology**, v. 100, n. 19, p. 8583-8592. 2016.

YU, X. Y.; YING, G. G.; KOOKANA, R. S. Reduced plant uptake of pesticides with biochar additions to soil. **Chemosphere**, v. 76, p. 665-671, 2009.

XAVIER, A. R. E. O.de; FREITAS, A. A. M. de; ALMEIDA, A. C. de; AZEVEDO, V. A. de C.; BRANDI, I. V. Genes 16S RNA ribossomal e pld como marcadores moleculares para identificação genotípica de amostras clínicas de *Corynebacterium* spp. **Cad. Ciênc. Agrá**, v. 8, n. 2, p. 23-29, 2016. ISSN 2447-6218.

XU, M.; XIA, H.; WU, J.; YANG, G.; ZHANG, X.; PENG, H.; YU, X.; LI, L.; XIAO, H.; QI H. Shifts in the relative abundance of bacteria after wine-lees-derived biochar intervention in multi metal-contaminated paddy soil. *Rev. Sci Total Environ*, p.1297-1307. 2017a.

XU, X.; ZHÃO, Y.; SIMA, J.; ZAO, L.; MAŠEK, O.; Cao, X. Indispensable role of biochar-inherent mineral constituents in its environmental applications: A review. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 887-899. 2017b.

ZHANG, A.; LIU, Z.; PAN, P.; HUSSAIN, Q.; LI, L.; ZHENG, J.; ZHANG, X. Effect of biochar amendment on maize yield and greenhouse gas emissions from a soil organic carbon poor calcareous loamy soil from Central China Plain. **Plant Soil**, v. 351, p. 263–275, 2012.

ZHAO, X.; WANG, J.; WANG, S.; XING, G. Successive straw biochar application as a strategy to sequester carbon and improve fertility: A pot experiment with two rice/wheat rotations in paddy soil. **Plant Soil**, v. 378, p. 279–294, 2014.

ZHÃO, X.; WANG, J.; WAN, S.; XING, G. Successive straw biochar application as a strategy to sequester carbon and improve fertility: A pot experiment with two rice/wheat rotations in paddy soil. **PlantSoil**, v. 378, p. 279–294. 2014.

ZHENGFU, B. I. A. N.; INYANG, H. I.; DANIELS, J. L.; Frank, O.; STRUTHERS, S. Environmental issues from coal mining and their solutions. **Mining Science and Technology**, n. 20, p. 215–223. 2010.