

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS

David Andrés González Rocha

**FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES E
BIOCARVÃO NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE
BRACATINGA (*Mimosa scabrella*) E CEDRO (*Cedrela
fissilis*) EM SOLO DE ÁREAS DE MINERAÇÃO DE
CARVÃO.**

Dissertação submetida ao
programa de Pós-graduação em
recursos Genéticos Vegetais da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção de Grau
de mestre em Ciências, área de
concentração em Recursos
Genéticos Vegetais.
Orientador: Prof. Dr Cláudio R.F.S.
Soares

Florianópolis, SC
2016

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

González Rocha, David Andrés

Fungos micorrizicos arbusculares e biocavão no crescimento de mudas de bracatinga (*Mimosa scabrella*) e cedro (*Cedrela fissilis*) em solos de áreas de mineração de carvão / David Andrés González Rocha ; orientador, Cláudio Roberto Fonsêca Souza Soares - Florianópolis, SC, 2016.

108 p.

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

Inclui referências

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. revegetação. 3. fungos micorrizicos arbusculares. 4. biocarvão. 5. adubação de fósforo. I. Soares, Cláudio Roberto Fonsêca Souza. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

David Andrés González Rocha

**FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES E
BIOCARVÃO NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE
BRACATINGA (*Mimosa scabrella*) E CEDRO (*Cedrela
fissilis*) EM SOLO DE ÁREAS DE MINERAÇÃO DE
CARVÃO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do
Título de “Mestre em Ciências”, e aprovada em sua forma
final pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos
Genéticos Vegetais.

Florianópolis, Junio 25 de 2016.

Prof. Paulo Lovato Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Cláudio R.F.S. Soares Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Sidney Stürmer Dr.
Universidade Regional de Blumenau

Rafael Dutra de Armas Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Paulo Lovato Dr.
Coordenador do Curso

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Consuelo Rocha e Danilo González pelo ensino e o apoio.

Ao Professor Cláudio por aceitar me orientar, pela oportunidade apoio e disponibilidade.

Aos meus irmãos pelo apoio incondicional.

À CAPES, CNPq, PRONEM e FAPESC pelo apoio financeiro.

Ao Rafa pelo apoio e a ajuda em todo o desenvolvimento deste trabalho.

A Diana por me ajudar em todo momento e me levar pelo caminho das micorrizas.

A Adriana pela ajuda na escrita deste trabalho.

A todos meus colegas do laboratório por fazer sempre agradável o trabalho especialmente a Anabel, Carol, Manu, Andressa, Maria, Francisco, Paola, Willian e Thays.

À Shantau pela paciência e pela ajuda nestes dois anos de mestrado.

Aos vizinhos colombianos Anyela, Natalia, Edison, Julio, Gabriel, Byron, Jose, Ana Maria e Diego pela acolhida e por fazer sentir como em casa.

Ao professor Sidney pelo apoio neste projeto especialmente nos isolados que foram utilizados neste trabalho.

Finalmente, aos meus colegas do programa pelo enorme prazer de fazer o mestrado com eles.

RESUMO

No sul de Santa Catarina, cerca de 6700 hectares encontram-se degradados pela atividade de mineração de carvão. Para a recuperação destas áreas é proposta a implementação do processo de revegetação. Entretanto, as espécies vegetais apresentam dificuldades no estabelecimento nessas áreas devido às condições adversas do solo. Neste contexto, a adição de substratos que melhorem as condições do solo como o biocarvão, o qual confere a capacidade de aumentar o pH dos solos ácidos, aumentar a capacidade de retenção de água do solo, aumentar o teor de carbono e reduzir a lixiviação de elementos contaminantes. Além disso, a utilização de plantas pioneiras inoculadas com fungos micorrizicos arbusculares (FMA) pode ajudar na implantação de cobertura vegetal nestes locais, devido ao favorecimento na absorção de elementos pouco móveis no solo como é o caso do fósforo (P). O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do biocarvão e da adubação fosfatada na simbiose de FMA em mudas de bracatinga (*Mimosa scabrella*), e cedro rosa (*Cedrella fisillis*), destinadas a programas de recuperação de áreas degradadas pela mineração de carvão. Para isso, dois experimentos independentes foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFSC. Em um primeiro ensaio foi avaliada a influência do biocarvão na simbiose FMA-Planta seguindo delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 X 5: com cinco concentrações de biocarvão misturado no solo (0%, 1%, 2,5%, 5%, 10% v/v) e cinco tratamentos de inoculação com FMA (*Acaulospora morrowiae* SCT400A, *Gigaspora albida* SCT200A, *Rhizophagus clarus* RJ102A, a mistura dos três FMA e um tratamento controle sem propágulos de FMA) em bracatinga e cedro por 15 semanas. No segundo ensaio foi avaliada a interação FMA-planta em diferentes concentrações de P no solo seguindo delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 6 X 3: seis tratamentos de inoculação de FMA (*Acaulospora*

morrowiae SCT400A, *Gigaspora albida* SCT200A, *Rhizophagus clarus* RJ102A, *Acaulospora colombiana* SCT115A, *Claroideoglossum etunicatum* SCT115A e um tratamento controle não inoculado) e três concentrações de P no solo (0 mg kg⁻¹ P solo, 50mg kg⁻¹ P solo e 200mg kg⁻¹ P solo) por 13 semanas. As variáveis avaliadas foram: pH do solo, colonização micorrizica, número de esporos no solo, altura da planta, diâmetro do caule, biomassa da parte aérea e teor e acúmulo de P nas folhas. Neste estudo encontrou-se que as plantas tiveram um crescimento maior quando foram inoculadas e quando foi adicionado o biocarvão no solo. As plantas de cedro apresentaram maior crescimento nas doses altas de biocarvão, enquanto que maiores doses de biocarvão foram prejudiciais no crescimento da bracatinga. Além disso, os FMA tiveram comportamentos diferentes para cada espécie vegetal, sendo os tratamentos com *A. morrowiae* os que apresentaram maior colonização micorrízica e crescimento na bracatinga e os tratamentos com *R. clarus* no cedro. Também, se verificou que a falta ou o excesso de P no solo podem inibir a colonização micorrízica e o crescimento das mudas. Quando os FMA foram inoculados num solo sem esterilizar o crescimento vegetal não apresentou diferenças significativas com o tratamento controle. Em conclusão encontrou-se que os FMA junto com o biocarvão e a adubação de P são uma ferramenta útil nos processos de revegetação.

Palavras-chave: revegetação; fungos micorrizicos arbusculares; biocarvão; adubação de fósforo.

ABSTRACT

In the south of Santa Catarina's state, near of 6700 ha are presently degraded due coal mining. In order to the recovery of these land was proposed the implementation of revegetation process. Meanwhile, the plant species face difficulties growing in these lands due to the adverse soil conditions. With this aim on mind, the addition of substrates that could enhance soil conditions like biochar, which contribute to increasing the pH in acid soils, enhance water holding capacity, as well as enhance soil carbon sequestration and prevent lixiviation of potential contaminants. In addition, pioneering plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (FMA) could help in the implementation of vegetation cover in these lands, because produce an increase in the absorption of low-mobile elements like phosphorus (P). This project aiming to evaluate the influence of biochar and phosphorus soil addition in the symbiosis of AMF in bracatinga (*Mimosa scabrella*) and cedar (*Cedrela fissilis*) for recovery degraded lands due coal mining programs. This was carried out in two independent experiments at greenhouse in Laboratorio de Microbiologia do Solo at UFSC. In the first experiment was tested the influence of biochar in AMF-Plant symbiosis in a completely randomized factorial design 5 X 5 with five concentrations of biochar mixed in soil (0%, 1%, 2,5%, 5%, 10% v/v) and five inoculation AMF treatments (*Acaulospora morrowiae* SCT400A, *Gigaspora albida* SCT200A, *Rhizophagus clarus* RJ102A, a mix with the tree AMF anda treatment without AMF propagules) in bracatinga and cedar for 15 weeks. For the second experiment was tested the interaction AMF-Plant with different doses of P in soil in a completely randomized factorial design 6 X 3: six AMF inoculation treatments (*Acaulospora morrowiae* SCT400A, *Gigaspora albida* SCT200A, *Rhizophagus clarus* RJ102A, *Acaulospora colombiana* SCT115A, *Claroideoglomus etunicatum* SCT115A and an no-inoculated treatment) and three P doses in soil (0 mg kg⁻¹ P of soil, 50mg kg⁻¹ P of soil e

200mg kg⁻¹ P of soil) for 13 weeks. Variables assessed were soil pH, AMF root colonization, number of spores in soil, plant height, stem diameter, above ground biomass and P content and accumulation. In this study were found that plants grew more when were inoculated with AMF and were planted with biochar in the soil. Cedar plants grew better in the higher biochar doses, while high doses were prejudicial for bracatinga. Besides that, AMF shown different performance for each plant specie being treatments with *A. morrowiae* the one that shown higher root colonization and plant growth in bracatinga and the ones inoculated with *R. clarus* in cedar. Also found that the lack and excess of P in soil could inhibit both plant and AMF development. When the AMF were inoculated in a non autoclaved soil with native AMF, plant growth did not shown differences with the non-inoculated treatment. In conclusion AMF, biochar and P addition are a useful tool in revegetation process.

Key words: revegetation; arbuscular mycorrhizal fungi; biochar; phosphorus soil adition

LISTA DE IMAGENS

Imagem 1 Região carbonífera no estado de Santa Catarina (Oliveira <i>et al.</i> , 2011).....	24
Imagem 2 Áreas degradadas da região carbonífera de Santa Catarina (APPI <i>et al.</i> , 2010).....	27
Imagem 3 Degradação devida à mineração de carvão.....	28
Imagem 4 Estrutura e composição do biocarvão (DAS & SARMAH, 2015).....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: pH no solo após da semeadura de bracatinga e cedro de 12 e 13 semanas de crescimento respectivamente inoculadas com *A. morrowiae*, *G. albida*, *R. clarus*, mistura dos três fungos e sem inocular. As barras representam o erro padrão da média. Os valores n.s. são para os dados não significativos

51

Figura 2: Porcentagem de colonização micorrizica, número de esporos e quantificação diferencial de esporos por espécie nos tratamentos com todos os FMA dos fungos *R. clarus*, *G. albida*, *A. morrowiae*, e mistura dos três fungos nas diferentes concentrações de biocarvão em bracatinga e cedro após de 15 semanas da semeadura. As barras representam o erro padrão da média. Os valores n.s. são para os dados não significativos e os s.a. para os dados sem ajuste.....

52

Figura 3: Crescimento de bracatinga e cedro os fungos *R. clarus*, *G. albida*, *A. morrowiae*, e mistura dos três fungos nas diferentes concentrações de biocarvão após de 15 semanas da semeadura. As barras representam o erro padrão da média. Os valores n.s. são para os dados não significativos.....

55

Figura 4: Teor e acúmulo de P na bracatinga e cedro sem inoculação e com os fungos *R. clarus*, *G. albida*, *A. morrowiae*, com a mistura dos três fungos nas diferentes concentrações de biocarvão após de 15 semanas da semeadura. As barras representam o erro padrão da média.....

57

Figura 5: PCA de todos os tratamentos. A letra B indica bracatinga, a letra C indica cedro e o número indica a proporção de biocarvão com o solo sendo 0, 1, 2,5, 5 e 10%. Finalmente a ultima letra indica o tratamento com o fungo. Os tratamentos sem letra final foram os tratamentos sem FMA, a letra A indica *A. morrowiae*, a letra G *G. albida*, a letra R *R. clarus* e a letra T e para os tratamentos com todos os fungos. As variáveis testadas foram diâmetro, pH, altura, biomassa, número de esporos em 50 ml de solo, porcentagem de colonização (Col), teor de P e acúmulo de P.....

58

Figura 6: Altura, diâmetro e massa seca da parte aérea das plantas de bracatinga (A, C e E respectivamente) e cedro (B, D, F) com os FMA *A. colombiana*, *A. morrowiae*, *C. etunicatum*, *R. clarus*, *G. albida* e sem inoculação (NI) nas diferentes concentrações de P após de 13 e 12 semanas da semeadura respectivamente. Letras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo test de Scott-Knott. As letras maiúsculas separam as médias entre as doses de P e as minúsculas as médias entre os tratamentos de FMA. As barras representam o erro padrão da média.....

72

Fig 7: Teor e acúmulo de P na bracatinga (A e C respectivamente) e cedro (B e D) com os fungos *A. colombiana*, *A. morrowiae*, *C. etunicatum*, *R. clarus*, *G. albida* e sem inoculação (NI) nas diferentes concentrações de P após de 13 e 12 semanas da semeadura respectivamente. Letras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo test de Scott-Knott. As barras representam o erro padrão da média.....

73

Fig 8: Porcentagem de colonização radicular na bracatinga (A) e cedro (B) com os fungos *A. colombiana*, *A. morrowiae*, *C. etunicatum*, *R. clarus*, *G albida* e sem inoculação nas diferentes concentrações de P após de 13 e 12 semanas da semeadura respectivamente. Letras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo test de Scott-Knott. As barras representam o erro padrão da média.....

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Caracterização químico-física do biocarvão e da matéria prima a partir da qual foi gerado (cama de aviário).

SUMÁRIO

SUMARIO	19
1. JUSTIFICATIVA	21
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Impactos ambientais gerados pela mineração do carvão	23
2.2. Fungos Micorrízicos Arbusculares em Solos Degradados	34
2.3. Biocarvão: caracterização e potencial de aplicação em solos degradados	38
3. HIPOTETES	42
4. Capítulo1: Fungos micorrizicos arbusculares e biocarvão na produção de mudas de espécies arbóreas em solo de áreas de mineração de carvão	43
4.1. INTRODUÇÃO	43
4.2. OBJETIVOS	45
4.2.1. OBJETIVO GERAL	45
4.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
4.3. MATERIAL E MÉTODOS	45
4.4. RESULTADOS	50
4.4.1 pH do solo	51
4.4.2 Colonização e esporulação dos FMA	52
4.4.3 Crescimento das mudas	54
4.4.4 Teor e acúmulo de P nas plantas	56
4.5 DISCUSSÃO	59
4.5.1. Efeito do biocarvão sobre a interação Planta-FMA	59
4.5.2. Efeito biocarvão-FMA na planta	63
4.6. CONCLUSÕES	65
5. Capítulo 2: Micorrizas arbusculares e fosfato no crescimento de espécies arbóreas em solo de áreas de mineração de carvão.	67
5.1. INTRODUÇÃO	67
5.2. OBJETIVOS	69
5.2.1. OBJETIVO GERAL	69
5.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	69
5.3 MATERIAL E MÉTODOS	69
5.3.1 Implantação e condução experimental	70

5.3.2 Avaliações	71
5.3 RESULTADOS	71
5.4 DISCUSSÃO	76
5.5 CONCLUSÕES	80
REFERÊNCIAS	81
ANEXOS	101

JUSTIFICATIVA

A lavra de carvão mineral a céu aberto nos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, nas décadas passadas, não foram desenvolvidas com um adequado planejamento nem observados os padrões de recuperação necessários e indispensáveis para manter a qualidade do meio ambiente no entorno das áreas mineradas. As propriedades físicas destas áreas e a baixa reserva de nutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas impõem severas restrições ao seu uso agrícola e florestal, especialmente por um elevado grau de desestruturação, pH ácido, toxicidade de elementos-traço e textura bastante friável, sendo muito suscetível a processos erosivos. Além disso, nota-se que a exposição desses materiais às condições atmosféricas e, conseqüentemente, dos seus minerais sulfetados, possibilitam a formação de drenagem ácida, provocando a alteração da qualidade das águas pela diminuição do pH, afetando as águas subterrâneas e superficiais dos rios, situações estas comumente encontradas em áreas de mineração abandonadas na região de Criciúma-SC.

Atualmente, o processo de recuperação de áreas impactadas pela mineração de carvão no estado de Santa Catarina prevê o Diagnóstico Ambiental e o Projeto Executivo, sendo o primeiro bastante pesquisado nos últimos anos, enquanto o segundo se encontra em estágios iniciais de implantação em várias áreas. O Projeto Executivo prevê atividades como a conformação da topográfica e construção de redes de drenagem, isolamento dos materiais contaminantes, reconstrução do solo e implantação de projetos de revegetação, incluindo cobertura herbácea e arbórea (Brasil, 2013). Nos solos degradados ou naqueles reconstruídos, observa-se intensa remoção dos horizontes superficiais do solo com conseqüente redução da matéria orgânica contida nesta camada, causando sérios problemas na estrutura, disponibilidade de água e atividade biológica do solo, o que prejudica o suprimento de nutrientes essenciais como o P, S e principalmente N. Desta forma, há a necessidade de

adubações frequentes nos locais em recuperação para que o processo de revegetação seja satisfatório. Neste contexto, as simbioses radiculares como as associações com micorrizas podem representar uma importante ferramenta na revegetação de solos impactados pela mineração, pois contribuem para o crescimento e estabelecimento de espécies vegetais nestes ambientes aumenta a eficiência do uso de água e nutrientes do solo e podem facilitar o estabelecimento de outras espécies vegetais mais exigentes. Além disso, o emprego do Biocarvão pode favorecer o estabelecimento das espécies vegetais e das comunidades microbianas do solo, as quais possuem papéis fundamentais no funcionamento do solo. Entretanto, a maioria destes benefícios foram, até o momento, constatados em solos agrícolas e poucos estudos foram realizados em áreas impactadas, especificamente em áreas sob deposição de rejeitos de mineração de carvão. Desta forma, espera-se que a aplicação de microrganismos selecionados via inoculação de sementes e produção de mudas, aliado à introdução do biocarvão e fósforo (P) possam contribuir eficientemente para a recuperação das áreas impactadas, sendo este o objeto de estudo do presente projeto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Impactos ambientais gerados pela mineração do carvão

O carvão mineral é considerado o combustível fóssil mais abundante no planeta, tendo grande importância na produção de energia elétrica (WCI, 2005). A extração de carvão mineral representa uma importante atividade para o sistema elétrico brasileiro (setor termoeletrico) com produção de energia superior a 3.000 mega watts, além de ser usado na indústria cimenteira e petroquímica, na produção de papel e celulose. As reservas no Brasil atingem 32,6 bilhões de toneladas e correspondem a 50% dos recursos energéticos não renováveis do país, sendo as reservas concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CPRM, 2010).

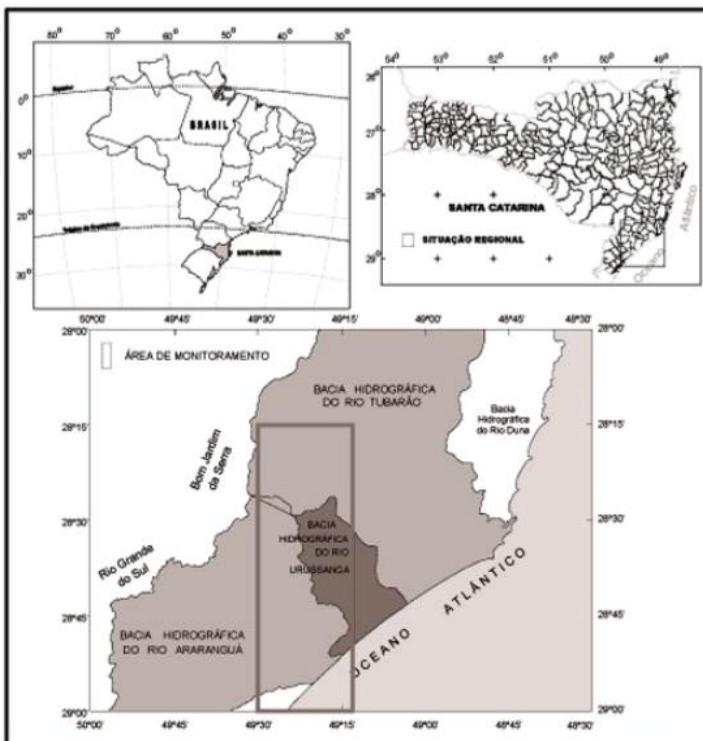
No estado de Santa Catarina, a extração de carvão mineral é realizada principalmente nas cidades de Criciúma, Forquilha, Içara, Lauro Müller, Maracajá, Morro da Fumaça, Siderópolis, Treviso e Urussanga, na Bacia Carbonífera de Santa Catarina. Esta bacia, localizada a sudeste do estado, compreende uma faixa de aproximadamente 95 km de comprimento por 20 km de largura, localizada entre a Serra Geral (a oeste) e o maciço granítico da Serra do Mar (a leste) (BELOLLI *et al.*, 2002). Nesta região encontra-se a segunda maior reserva do minério no Brasil, com 3,4 bilhões de toneladas (GOMES *et al.*, 2003).

No Brasil as principais jazidas de carvão encontram-se na região sul, nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. O estado que possui a maior quantidade de carvão é o Rio Grande do Sul o qual possui 89,25% do carvão, seguido por Santa Catarina com o 10,41% (Imagem 1), Paraná com o 0,32% e São Paulo com 0,02% (CPRM, 2002).

Desde o começo do século XIX os tropeiros que viajavam do Rio Grande do Sul até Minas Gerais, descobriram as jazidas de carvão mineral em Santa

Catarina. Estes usavam o carvão principalmente como combustível para esquentar-se. Com o tempo, esse descobrimento fez que o Rei João VI iniciasse, em 1832, a primeira tentativa de exploração do mineral em Santa Catarina (VITTORETTI, 1992).

As primeiras tentativas de fazer mineração em grande escala no estado foram abandonadas pouco tempo depois de começadas, devido às grandes distâncias que havia entre as minas de Laguna e os portos. Isso gerou uma dependência econômica de Portugal, até a renúncia da coroa de Pedro I, em 1831, momento a partir do qual se iniciou uma crise política no país e um abandono da mineração.



Img 1: Região carbonífera no estado de Santa Catarina (Oliveira

et al., 2011).

Em 1861 retomaram-se os trabalhos para a exploração das minas por meio do Felisberto Caldeira Brand Pontes e James Johnson que por meio de investidores ingleses iniciou em 1874 a construção da estrada de ferro que iria desde Imituba até Minas. Em 1885 foi entregue a primeira linha que comunicava o município de Lauro Müller e o porto da Laguna ajudando assim na criação da companhia mineira The Tubarão Coal Mining Company LTDA em 1886 (ABCM, 2009). Ainda nesse ano, foi feita a primeira exportação de carvão para Buenos Aires –a primeira e última durante um longo período, devido as grandes perdas que representou para a empresa mineira. Isso devido a que o preço de venda não superou o equivalente a um quarto dos custos de produção. Como consequência disso, a exploração mineira parou e a estrada de ferro foi quase abandonada até 1890, após a formação da República. (BELOLLI *et al.*, 2002).

Em 1918, o governo autorizou a concessão de empréstimos para empresas com uma produção maior a 15 toneladas por dia. Essa lei foi impulsada, principalmente, pelo impedimento de exportação de carvão da Europa imposto durante a primeira guerra mundial, exportação que antes da guerra se caracterizava por ser mais barata e de melhor qualidade (OLIVEIRA, 2006). Com o fim da guerra as exportações foram normalizadas e, em consequência, a produção nacional voltou a decair, sendo abandonadas várias minas. Em 1931, já com Getúlio Vargas no poder, se impulsou uma lei para que pelo menos o 10% (que posteriormente foi o 20%) do carvão usado na indústria fosse nacional o que gerou a criação de várias empresas carboníferas (GOULARTI FILHO, 2009).

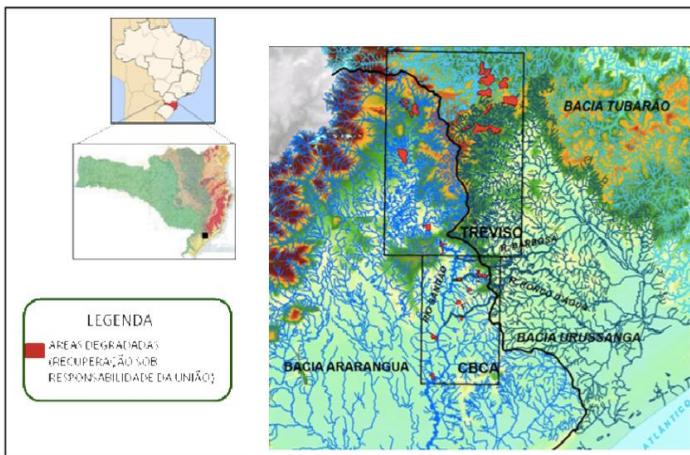
Na segunda guerra mundial acontece novamente o mesmo fenômeno da primeira guerra, onde foi impossível importar o carvão, pelo qual a produção nacional teve que suprir a demanda ocasionando um crescimento econômico para o setor de 300% facilitando assim que o Brasil pudesse exportar o carvão a preços mais competitivos

(COSTA, 2000). Foi então, em 1946, quando se criou a Companhia Siderúrgica Nacional, que marcou um momento importante do processo de industrialização do Brasil (CSN, 2008). Entre 1953 e 1970 o governo apoiou a iniciativa de obter energia elétrica do carvão, destacando em 1960 a construção da termelétrica Jorge Lacerda, que posteriormente seria Tractebel. Esta, hoje, é uma das maiores termelétricas da América Latina e uma base importante para a economia da região carbonífera de Santa Catarina (GOULARTI FILHO & MORAIS, 2004). O governo manteve sempre os subsídios para as carboníferas que seguiram crescendo depois das crises energéticas mundiais de 1976 e 1979. Cabe anotar que isso garantiu as condições para que a indústria continuasse se posicionando (SIECESC, 2008). Esses benefícios foram mantidos até 1990, quando foi assinada a Portaria Federal 801, em que o governo retirou todos os subsídios para as carboníferas. Como pode se supor, essa medida impactou o setor, ocasionando o abandono de várias minas e projetos. Essa crise viu-se aprofundada com o problema ambiental que trouxe a mecanização da extração de carvão, que teve entre suas manifestações o envenenamento de cultivos de arroz em Ararangua e a perda e o retrocesso da economia do setor pesqueiro no complexo Lagunar de Santo Antônio (FATMA, 1983).

Os problemas ambientais seguiram crescendo pela exportação mineira e a falta de controles nas minas abandonadas o que fez que no ano de 2006 as empresas carboníferas se comprometeram pelo Termo de Conduta com a Fundação Meio Ambiente a reduzir o impacto ambiental gerado num prazo de 12 meses (PRSC, 2007).

Apesar do importante papel do carvão na economia do sul do Estado de Santa Catarina, o impacto ambiental causado pela exploração é também expressivo, sendo considerada área crítica nacional para fins de controle de poluição (BRASIL, 1980). A mineração a céu aberto é uma das atividades produtivas que causa as maiores mudanças nos ecossistemas afetados, devido ao desmatamento, remoção de solo e modificações topográficas sobre áreas

relativamente grandes. Além desses efeitos diretos, desencadeia outros indiretos, como o aumento da susceptibilidade à erosão, poluição de corpos d'água, a migração da fauna e a perda do valor paisagístico (Img 3)(BARTH, 1989; SANCHEZ e FORMOSO, 1990).



Img 2: Áreas degradadas da região carbonífera de Santa Catarina (APPI *et al.*, 2010).

As atividades de mineração de carvão alteram física, química e biologicamente os ecossistemas associados às áreas mineradas, pondo em risco o solo, a biota e os recursos hídricos (SOARES *et al.*, 2008). Dentre os impactos físicos têm-se aqueles ocasionados pelo processo de lavra, ocasionando a destruição da estrutura do solo, pela remoção da vegetação da superfície, a fim de se ter acesso à camada de carvão. No entanto, do ponto de vista químico, a drenagem ácida de mina (DAM) representa um dos maiores problemas ambientais da exploração de carvão, principalmente no estado de Santa Catarina (SILVEIRA *et al.*, 2007). DAM é gerada pela oxidação da pirita e a formação de ácido sulfúrico, sulfato e íons ferroso e férrico, catalisados principalmente pelas espécies bacterianas *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Thiobacillus denitrificans* (RUBIO, 1998). O resultado desse

processo oxidativo é a redução acentuada no pH do solo, atingindo valores inferiores a 4,0. Nessas condições de acidez, grande parte dos compostos contendo elementos-traço é solubilizada, ficando passíveis de lixiviação e contaminação de mananciais de água, além de dificultar o estabelecimento da vegetação no local contaminado (DIAS *et al.*, 2005).

Calcula-se que exista na região sul do estado de Santa Catarina cerca de 6.700 ha de áreas degradadas pela mineração e que 2/3 dos cursos d'água estejam comprometidos pela DAM e pela deposição de rejeitos nos aquíferos (JICA, 1997). Como resultado do processo de mineração nessas áreas, a fertilidade do solo também encontra-se severamente afetada. Além disso, devido à remoção da vegetação, há mudanças das paisagens com marcado impacto sobre a biodiversidade da região. Dessa forma, a intervenção antrópica para sua recuperação é imprescindível (STAHL *et al.*, 2002; GONÇALVES, 2008).



Img 3: degradação devida à mineração de carvão

Em qualquer atividade de mineração, a reversão da degradação pode ser obtida por meio de vários processos

de recomposição (SIQUEIRA *et al.*, 1994). Segundo Dias & Griffith (1998), a recuperação de áreas degradadas pode ser conceituada como um conjunto de ações, idealizadas e executadas por profissionais de diferentes áreas, que visam proporcionar o restabelecimento de condições de equilíbrio e sustentabilidade existentes anteriormente em um sistema natural. Os tratamentos físico-químicos convencionalmente utilizados para a recuperação de áreas degradadas apresentam várias limitações. Geralmente são custosos, de eficácia limitada e podendo afetar de forma irreversível as propriedades do solo, estimulando o desenvolvimento de novas tecnologias (DELGADILLO *et al.*, 2011).

A restauração e a reabilitação ecológica constituem práticas interessantes para reduzir a vasta extensão de terras degradadas (BRADSHAW, 1987). A restauração é alcançada quando a área recuperada apresenta características estruturais e funcionais semelhantes ao ecossistema existente antes da intervenção antrópica. Isso geralmente é um objetivo muito difícil, pois exige uma profunda compreensão do ecossistema. Em contraste, a reabilitação é geralmente uma meta mais viável já que o objetivo é conseguir condições semelhantes, mas não necessariamente iguais ao que existia antes da perturbação (PYWELL *et al.*, 2003). A reversão da degradação visa reduzir os impactos sobre a qualidade e funcionalidade dos ecossistemas e isso exige uma ação multidisciplinar que pode ser demorada em função da complexidade e do grau de perturbação ao qual o solo foi submetido (LAMB *et al.*, 2005).

A revegetação é uma alternativa de baixo custo de implantação e manutenção que auxilia no processo de recuperação de áreas degradadas em que são adotadas medidas para a implantação de uma cobertura vegetal, visando não somente a recuperação paisagística, mas também o controle dos processos erosivos e recuperação das propriedades do solo (NASCIMENTO & BIONDI, 2008; SIQUEIRA *et al.*, 2008). A revegetação de áreas degradadas estabiliza a área, protege o solo e garante o

aporte de material orgânico ao solo, amenizando os fatores adversos à sucessão vegetal (BROWN & LUGO, 1994; SILVA JÚNIOR *et al.*, 1995), constituindo-se em um importante processo recuperador. A manutenção da cobertura do solo propicia também outros benefícios, tais como; proteção contra a radiação solar, mantendo as temperaturas mais baixas, reduzindo a perda de água por evaporação; maior ciclagem de nutrientes, além de beneficiar a atividade biológica (GASSEN & GASSEN, 1996).

Estudos mostram que para a recuperação de áreas devastadas pela mineração é necessário o planejamento adequado do processo de reabilitação, o que permite reduzir o tempo de exposição ao impacto, assim como restituir potencialmente a diversidade biológica e a produtividade do ecossistema (SÁNCHEZ *et al.*, 2003). Nesse contexto, é essencial a utilização de espécies de plantas capazes de se adaptar a esses solos degradados. No entanto, há dificuldade em se implantar uma cobertura vegetal nesses locais devido principalmente à baixa disponibilidade de nitrogênio e fósforo, e às condições físicas do solo inapropriadas para o crescimento vegetal (FERRARI e WALL, 2004).

A recuperação deve visar ainda a criação de um ambiente propício à proliferação de uma biota diversa e ativa no solo, iniciando os processos funcionais que levam à recuperação. As plantas, por meio da adição de material orgânico e efeito rizosférico, são agentes catalisadores e vários processos essenciais à recuperação das funções do ecossistema, especialmente dos organismos e processos microbianos do solo.

As espécies vegetais selecionadas para implantação devem se adaptar bem às condições prevalentes de solo e ambiente, sendo ainda ideal que estas espécies apresentem capacidade de fixação do N₂ atmosférico, em razão da carência desse nutriente na maioria dos solos degradados (SIQUEIRA *et al.*, 2008). Com isso, a introdução de plantas em associação com comunidades manejadas de micro-simbiontes, como fungos micorrízicos

arbusculares (FMA) e bactérias fixadoras de N₂ (BFN), constitui uma promissora ferramenta biotecnológica para auxiliar na revegetação de ambientes e ecossistemas degradados (DONNELLY & FLETCHER, 1994; FRANCO *et al.*, 1995; FRANCO & FARIA, 1997; MEHARG & CAIRNEY, 2000; REQUENA *et al.*, 2001; SIQUEIRA *et al.*, 2007).

No sul do estado de Santa Catarina, além de numerosas APP (Áreas de Preservação Permanente), existem extensas áreas compostas por pilhas de rejeitos (consideradas no APP). Nessas zonas recomendam-se espécies vegetais que não comprometam a impermeabilização dos rejeitos, o seja, não podem ter sistema radicular profundo como, por exemplo, as leguminosas (BRASIL, 2013).

As áreas de preservação permanente segundo os art. 2º e 3º do código florestal brasileiro são as áreas onde independentemente de sua cobertura vegetal se procura proteger os recursos hídricos, a paisagem, a estabilidade geológica, a biodiversidade, o fluxo gênico de fauna e flora, o solo e assegurar o bienestar das populações. Estes podem ser considerados espaços territoriais especialmente protegidos como instrumentos de relevante interesse ambiental, que visa o desenvolvimento sustentável das presentes e futuras gerações (SOUZA, 2015).

O código florestal tem diferentes classificações para as APPs de acordo com as características de cada área. Por exemplo, os cursos d'água, podendo ser perene ou intermitente a normativa considera a conservação da vegetação sem importar sim é numa zona rural ou urbana. Pelo contrario para as nascentes a lei exige a proteção de um raio mínimo de 50 metros no entorno sem importar o estado onde este localizada. Esta faixa e o que se considera mínimo para garantir a proteção do recurso. As nascentes se consideram essenciais para a garantia do sistema hídrico que também por adição ajuda a conservar a cobertura vegetal.

Estes locais têm maior sensibilidade ambiental, por sua importância ecossistêmica. Para a revegetação dessas áreas recomenda-se a introdução de leguminosas arbóreas

nativas (BRASIL, 1994). Nesse sentido, vários projetos têm-se desenvolvido com a espécie *Mimosa scabrella* (bracatinga) visando à recuperação de solos degradados (MELLONI et al., 2004; REGENSBURGER, 2004; CARNEIRO et al., 2008; SATURNO et al., 2009).

A bracatinga (*Mimosa scabrella*) e o cedro (*Cedrela fissilis*) são espécies que apresentam facilidade de estabelecimento em áreas degradadas, sendo comumente utilizadas em programas de recuperação pela SATC (antiga Sociedade de Assistência aos Trabalhadores do Carvão hoje Associação Beneficente da Indústria Carbonífera de Criciúma). Além disso, várias pesquisas têm demonstrado respostas benéficas da inoculação de rizóbios e FMA no crescimento e nutrição mineral destas espécies em solos degradados pela mineração de carvão (MOURA et al., 2016; STOFFEL et al., 2016). Apesar de estas espécies serem frequentemente produzidas nos viveiros da SATC e utilizadas em programas de revegetação de áreas de APP na região de Criciúma-SC, as mesmas não recebem inoculação intencional de agentes microbianos benéficos ao seu crescimento, necessitando-se, desta forma, de grandes quantidades de fertilizantes para a obtenção de mudas de qualidade.

A família Leguminosae ou Fabaceae engloba espécies importantes na alimentação animal e humana, muitas fazem parte há milênios da cultura de diferentes povos na América. É a terceira família em número de espécies (cerca de 18.500), após o Compositae e Orquidiaceae. Distribuem-se em mais de 650 gêneros e podem ser encontradas nos mais variados habitats, do ártico aos trópicos. A família inclui árvores, arbustos e herbáceas, divididas em três subfamílias, Cesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. A sua capacidade para associar-se com bactérias fixadoras de nitrogênio é uma característica muito interessante do ponto de vista da colonização dos solos pobres, da melhoria ou a regeneração dos degradados, além da sua utilização em práticas agrícolas (PASCUAL, 2003).

A bracatinga é uma árvore perenifólia, com 4 a 18 m

de altura (CARVALHO, 1983). É nativa do sul do Brasil encontrando-se desde Minas Gerais até Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2003). A bracatinga é uma árvore muito comum na vegetação secundária, principalmente nas capoeiras, mas pode-se destacar que possui a capacidade de crescer em terrenos nus com alta ocorrência de radiação, podendo crescer também como vegetação primária (BAGGIO *et al.*, 1995). A Bracatinga, além de conseguir crescer em áreas sem vegetação, tem a capacidade de realizar simbioses com fungos micorrizicos arbusculares e bactérias fixadoras de nitrogênio (MOURA *et al.*, 2016; STOFFEL *et al.*, 2016). Em estudo realizado em áreas de mineração de bauxita em Poços de Caldas, Carneiro *et al.* (2008) verificaram que áreas revegetadas com *M. scabrella* apresentaram teores de N-total no solo de $1,11 \text{ g kg}^{-1}$ de solo após 19 anos, sendo esse valor semelhante ao da área referência não degradada.

Por outro lado, o cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae)) é uma espécie arbórea nativa da América Latina. Pode atingir até 40 m de altura e 200 cm de diâmetro, sendo considerada como uma espécie arbórea secundária inicial, mas pode ser encontrada como floresta primária nos solos degradados. No Brasil esta espécie se distribui na Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica (SAKURAGUI *et al.* 2010). Esta espécie é altamente estudada em condições de exposição a metais pesados. Trabalhos têm demonstrado que o cedro tem capacidade de crescer em solos com altos teores de Cd, Pb e Ni (PAIVA *et al.*, 2002), o que torna esta espécie uma boa opção para a recuperação de áreas degradadas com altos teores de metais pesados. Além disso, Souza *et al.* (2006) demonstrou elevado grau de dependência micorrizica dessa espécie *Rizophagus clarus* e isso pode ter relação com a morfologia radicular que se apresenta com poucos pêlos radiculares que são importantes para a absorção de nutrientes (SAKURAGUI *et al.* 2010).

2.2. Fungos Micorrízicos Arbusculares em Solos Degradados

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são simbiotróficos obrigatórios pertencentes ao filo Glomeromycota (SCHÜBLER *et al.*, 2001) e são capazes de colonizar as raízes da maioria das plantas terrestres, formando uma associação simbiótica mutualística denominada micorrizas arbusculares (MA). Os FMA são cosmopolitas, com ocorrência abundante mesmo em áreas com elevado grau de degradação (BRUNDRETT, 1991; KLAUBERG-FILHO *et al.*, 2005; STÜRMER & SIQUEIRA, 2008) e são encontrados em quase todas as famílias de espécies herbáceas e arbóreas, especialmente aquelas de interesse para recuperação ambiental. Uma das principais características dos FMA é que são simbiontes obrigatórios, ou seja, conseguem completar seu ciclo de vida apenas quando associados com uma planta hospedeira, a qual lhes fornece carboidratos necessários para seu desenvolvimento e formação dos esporos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

As micorrizas, por meio de suas hifas e micélio, permitem a absorção de água e nutrientes fora da zona de esgotamento que surge devido à maior absorção de nutrientes ao redor das raízes (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), sendo que a contribuição destes fungos pode atingir até 80% do P, 60% do Cu, 25% do N, 25% do Zn e 10% do K absorvidos pelas plantas (MARSCHNER & DELL, 1994). Além disso, por meio de mecanismos indiretos, os FMA favorecem a aquisição de N₂ atmosférico nas plantas nodulíferas (CARDOSO, 1986; JESUS *et al.*, 2005; SOARES & MOREIRA, 2010). A maior absorção de P, além de interferir diretamente no processo de fixação do N₂, aumenta a produção de raízes e a fotossíntese, o que aumenta a nodulação das plantas micorrizadas. A relação rizóbio-MAs é de grande interesse na recuperação ambiental, aonde os solos são extremamente deficientes nesses nutrientes e a introdução de leguminosas

noduladas e micorrizadas em áreas degradadas tem tido bastante sucesso (FRANCO *et al.*, 1995; FRANCO & BALIEIRO, 2000). No entanto, a melhor combinação entre BFN e FMA, em termos de crescimento do vegetal e outros parâmetros, não é determinada somente pela bactéria mais eficiente ou pelo fungo. Diversos outros fatores podem influir na eficiência dessa relação sobre o crescimento das plantas, entre os quais pode-se citar: genótipo e idade da planta hospedeira, compatibilidade funcional entre bactéria e fungo e atributos físicos e químicos do solo (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006; SOARES & MOREIRA, 2010).

Em situação de solos degradados, os FMA podem contribuir significativamente para o estabelecimento vegetal uma vez que pode desempenhar importante papel no aumento da tolerância das plantas a estresses ambientais como o estresse hídrico (PAULA & SIQUEIRA, 1987), redução nos efeitos da acidez do solo (Costa *et al.*, 2002) e na toxicidade de elementos-traço no solo (KLAUBERG-FILHO *et al.*, 2005; NOGUEIRA & SOARES, 2010), situações comumente encontradas em solos degradados pela mineração de carvão (MATSCHULLAT, 2000; DIAS *et al.*, 2005). Segundo Hart e Reader (2004), solos degradados apresentam baixo potencial de inóculo de FMA, mas isso pode ser revertido em função da alta capacidade adaptativa desses microrganismos. Com isso, os FMA apresentam potencial de conferir maior sobrevivência das espécies vegetais em ambientes com altos níveis de estresse (SCHREINER, 2007) e a simbiose micorrízica em espécies pioneiras pode auxiliar na sucessão vegetal, uma vez que essas espécies apresentam alta dependência a este tipo de simbiose nestes ambientes. Entretanto, em estágios mais avançados de sucessão, a dependência micorrízica das plantas é diminuída em função da maior capacidade de exploração das raízes e menor requerimento nutricional (SIQUEIRA *et al.*, 2007).

Solos degradados geralmente apresentam severas limitações nutricionais como de N e P e como as MAs aumentam a absorção destes nutrientes, esta simbiose

contribui para a melhoria da fertilidade do solo e melhoria do ambiente edáfico para o estabelecimento de novas espécies no local (SOUZA & SILVA, 1996). Estudos pioneiros realizados por Franco *et al.* (1991) utilizando espécies leguminosas nativas de rápido crescimento revelaram que a dupla inoculação com FMA e BFN é uma estratégia importante para a revegetação de áreas degradadas, proporcionando melhorias nos atributos físicos, químicos e biológicos do solo. No estudo de Macedo *et al.* (2008), o uso combinado de espécies de leguminosas com bactérias fixadoras de N e FMA propiciou taxas de seqüestro de C e N de 1,73 e 0,13 t ha⁻¹ ano⁻¹, respectivamente, em um período de 13 anos de recuperação de áreas degradadas. Nesse mesmo estudo, os teores de C na fração leve livre e oclusa da matéria orgânica, nas áreas de mata nativa e recuperadas, foram superiores aos observados para as áreas desmatadas, e isso implica em maior biodisponibilidade da MOS, dado que o C-fração leve é considerada umas das frações mais lábeis de C no solo. Em outro estudo, Bi *et al.* (2005) verificaram que a aplicação de MAs, em solo degradado pela mineração de carvão na China, aumentou a fertilidade do solo, favoreceu a estruturação do solo e aumentou a atividade biológica, contribuindo para a restauração ecológica da área degradada. Estes resultados evidenciam que os benefícios proporcionados pelas micorrizas no crescimento e acúmulo de nutrientes em espécies com elevado grau de micotrofia, por exemplo, aquelas que se beneficiam da simbiose com o fungo para a absorção de nutrientes, exercem papel fundamental no incremento de carbono e nutrientes na fitomassa e posteriormente na necromassa no solo, estimulando a cadeia trófica no ecossistema, a estruturação e sucessão vegetal, ficando evidente o potencial biorrecuperador das micorrizas (SIQUEIRA *et al.*, 2008).

Almeida & Raymundo-Júnior (2006) estudaram em casa de vegetação a contribuição de vários FMA sobre o crescimento da espécie arbórea *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg. (angico do cerrado) em solo de área

desmatada do cerrado e verificaram que a dupla inoculação com rizóbio e FMA melhorou a formação de nódulos do sistema radicular em 341% e a colonização micorrízica em 226%, proporcionando aumentos em altura, número de folhas e do diâmetro do colo de *A. falcata* correspondentes a 72, 71 e 15%, respectivamente, demonstrando o importante papel destas simbioses e do sinergismo entre FMA e BFN no estabelecimento de espécies no solo degradado.

Em outro estudo, várias espécies arbóreas dentre elas *Acacia longifolia* Willd. (acácia), *Tipuana tipu* (Benth), Kuntze (tipuana), *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze (maricá) e *Mimosa scabrella* (bracatinga) inoculadas com FMA e BFN foram submetidas a um solo degradado pela mineração após a extração de xisto pirobetuminoso em São Mateus do Sul (PR). A contaminação do solo provocou alta taxa de mortalidade entre as espécies estudadas, no entanto, estas espécies, quando inoculadas, apresentaram melhor estabelecimento neste solo (MASCHIO *et al.*, 1997). Estudos realizados por Faria *et al.* (1998) demonstraram também os efeitos benéficos da dupla inoculação (rizóbio e FMA) em áreas de restinga no Maceió (Al) e em áreas degradadas pela mineração após a extração da bauxita em Porto de Trompetas (PA).

Isolados de FMA oriundos de áreas degradadas podem favorecer o crescimento de espécies de plantas visando a revegetação dessas áreas, uma vez que esses fungos possuem a capacidade de se adaptar às condições adversas (SANTOS *et al.*, 2008). Esse aspecto foi constatado em estudos recentes realizados pelo Laboratório de Microbiologia do Solo em que isolados de FMA provenientes de áreas de mineração de carvão foram eficientes para o crescimento da bracatinga (*M. scabrella*) e do maricá (*M. bimucronata*) e estas apresentam maior absorção de P quando inoculadas (STOFFEL *et al.*, 2016) demonstrando a ocorrência espontânea de isolados eficientes de FMA e isso pode favorecer o processo de recuperação de áreas impactadas pela deposição de rejeitos de mineração de carvão. Apesar disso, a

quantidade de propágulos de FMA em ambientes degradados é geralmente baixa (SIQUEIRA *et al.*, 2007), havendo a necessidade de se multiplicar estes fungos em vasos com plantas (devido ao caráter de biotrófico obrigatório) de modo a se obter inoculante para a produção das mudas destinadas à revegetação.

2.3. Biocarvão: caracterização e potencial de aplicação em solos degradados

O biocarvão (Biochar, em inglês) é um produto oriundo da queima parcial (pirólise) de compostos orgânicos de diferentes origens. Este produto deve ser entendido como aquele distinto do carvão e materiais similares, uma vez que sua produção e aplicação têm como objetivo a melhoria de processos do solo, tais como a produtividade, o sequestro de carbono, a retenção de água e a filtração de água no solo (LEHMANN & JOSEPH, 2009). A constituição do material orgânico utilizado para a produção do biocarvão impõe características singulares ao produto obtido. Vários estudos têm demonstrado que as características físico-químicas e posteriormente biológicas associadas ao biocarvão são resultado direto deste material de origem e do processamento do mesmo (SHAMSUDDIN & WILLIAMS, 1992; BOURKE *et al.*, 2007; LEHMANN & JOSEPH, 2009). Isso se deve ao fato que a constituição do material, quando submetido a diferentes temperaturas de pirólise, sofre alterações que são resultado direto da sua constituição morfoestrutural. Assim, a característica própria do material de origem tem relação com a estrutura do produto final, ou seja, materiais mais porosos tendem a produzir um biocarvão mais poroso. Adicionalmente, processos de pirólise distintos aplicados sobre o mesmo material também resultam em diferentes biocarvões. Um exemplo deste fator pode ser visto nos resultados obtidos por Boateng (2007) quando da queima de resíduos orgânicos da gramínea *Panicum virgatum*, resultando em materiais com diferentes propriedades físicas em função da pirólise rápida (alta energia de

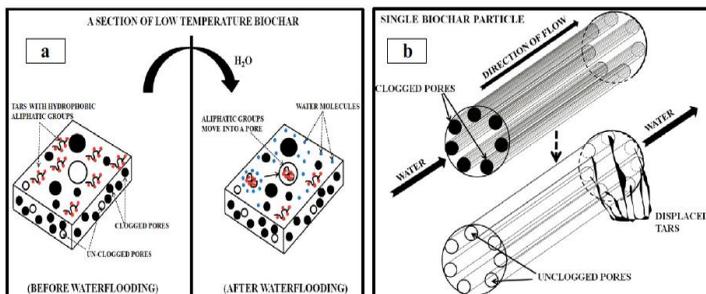
queima) ou lenta (baixa energia de queima). A pirólise rápida geralmente produz compostos com áreas superficiais maiores, mais aromáticos, enquanto a pirólise lenta gera biocarvões com maiores teores de carbono e de nutrientes que, invariavelmente, contribuem para uma melhor fertilidade do solo (STEIBEISS *et al.*, 2009).

Dentre as principais características benéficas associadas à adição de biocarvão ao solo estão a capacidade de retenção de água (macro, micro e nanoporosidade), aumento da capacidade de troca de ânions e de cátion (CTA e CTC), aumento da capacidade de sorção de nutrientes e, assim, redução da necessidade de fertilização química, melhoria da estrutura e estabilidade dos agregados do solo, com conseqüente redução dos processos erosivos, e, finalmente, melhoria global das características microbiológicas do solo (JOSEPH *et al.*, 2010).

Existem algumas dúvidas sobre a relação do biocarvão com a água, fundamentalmente sobre se é hidrófobo ou hidrófilo. Achou-se que essa relação depende, mormente, da temperatura de pirólise, que produz diferentes tipos de biocarvão dependendo de sua finalidade. Uma pirólise menor a 400°C (pirólise lenta) gera um produto hidrofóbico que pode ser usado em misturas com outros compostos e evitar a lixiviação. Por outro lado, uma pirólise maior a 400°C (pirólise rápida) gera um produto hidrofílico que pode ser usado para a filtragem (GASKIN *et al.*, 2008). Cabe anotar ainda que, segundo Das e Sarmah (2015), o processo a altas temperaturas inativa compostos alifáticos que são hidrofóbicos, e, que a maior temperatura o produto apresenta maior porosidade, aumentando assim a área de contato com a água e tornando-o mais hidrofílico (Img. 4.)

No que se refere ao aspecto microbiológico, a simples adição de biocarvão ao solo por si só incrementa consideravelmente os benefícios promovidos pelas populações autóctones daquele solo. Tem sido demonstrado que a adição de biocarvão estimula sobremaneira a colonização deste por microrganismos que

desempenham importantes processos no solo (WARNOCK *et al.*, 2007). Assim, a comunidade microbiana estimulada e protegida irá desempenhar papéis fundamentais na disponibilização de nutrientes no solo, tais como fósforo, nitrogênio e enxofre, além de uma série de micronutrientes fundamentais para a melhoria das condições dos ecossistemas.



Img 4: Estrutura e composição do biocarvão (DAS & SARMAH, 2015)

Estes benefícios mediados pelo biocarvão têm sido amplamente demonstrados para solos agrícolas, mas se acredita que a introdução de biocarvoes produzidos por pirólise lenta poderia facilitar a recuperação de ambientes degradados ao propiciar incrementos nos teores de carbono no solo, favorecer o estabelecimento e a sobrevivência de microrganismos no solo e reduzir o impacto da presença de substâncias contaminantes por meio da adsorção em sua superfície, evitando os processos de lixiviação em solos propensos a tais eventos (STEINER *et al.*, 2007). Nesse caso, a aplicação de biocarvão enriquecido com microrganismos selecionados de BFN e FMA poderia maximizar os benefícios das associações planta-microrganismos e contribuir para a recuperação de áreas impactadas pela mineração de carvão, sendo este um dos objetivos da presente proposta. Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que o

biocarvão pode ocasionar problemas para o crescimento vegetal, uma vez que este pode conter elevada concentração de compostos orgânicos voláteis dissolvidos em água que geram toxicidade na germinação de sementes. Esses compostos podem reduzir o pH do solo e acarretar problemas em solos ácidos (BUSS & MASEK, 2014). Vale ressaltar, que os efeitos da aplicação de biocarvão no solo são variáveis em função das características da matéria prima e da temperatura de pirólise empregada e, por esta razão, são necessários mais estudos sobre a sua aplicação no solo (GUNDALE & DELUCA, 2006).

As interações entre os FMA e o biocarvão ainda não estão muito bem elucidadas, mas estudos como o realizado por Warnock *et al* (2010) mostraram que a adição desse composto pode interferir na colonização micorrizica e isso pode estar relacionado com o aumento da disponibilidade de P devido a neutralização do solo promovida pelo biocarvão. Outras hipóteses são que o biocarvão pode conter alguns produtos gerados pela pirólise (como fenóis) pela condensação de celulose, taninos e lignina contidos na matéria prima na preparação do biocarvão. Além disso, o biocarvão pode conter altas doses de carvão ativado que limitam alguns nutrientes e a colonização micorrizica (GUNDALE & DELUCA, 2006). Entretanto, estudos recentes como o de LeCroy *et al* (2013) indicam que a adição de N no solo pode favorecer a colonização micorrizica já que em presença desse elemento pode aumentar a mineralização de compostos carbonados que facilitam a interação planta-fungo. O fornecimento desse nutriente pode ser mediado pelas BFN, as quais incrementam sua população na presença de biocarvão (MIA *et al.*, 2014).

3. HIPÓTESES

- A incorporação de biocarvão em diferentes doses pode ter efeitos sinérgicos na associação micorrizica em plantas arbóreas.
- Os FMA apresentam maior quantidade de esporos nas plantas de *M. scabrella* e *C. fissilis* na presença de biocarvão
- O crescimento de *M. scabrella* e *C. fissilis* é favorecido pela inoculação de diferentes espécies de FMA.
- A adição de biocarvão tem uma interação diferenciada para cada espécie de FMA.
- A inoculação dos isolados em solos nativos sem esterilizar melhora o crescimento das mudas de espécies florestais.

4. CAPÍTULO 1: Fungos micorrizicos arbusculares e biocarvão na produção de mudas de espécies arbóreas em solo de áreas de mineração de carvão

4.1. INTRODUÇÃO

O carvão mineral tem grande importância na produção de energia elétrica em diversos países (WCI, 2005). Somente no Brasil, as reservas desse recurso são da ordem de 32,6 bilhões de toneladas, sendo essas concentradas nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CPRM, 2010). A extração de carvão mineral a céu aberto nestas regiões gerou altos impactos ao ecossistema, onde não se observam os padrões de recuperação necessários e indispensáveis para manter a qualidade do meio ambiente. No sul de Santa Catarina, estima-se que aproximadamente 6.700 ha estejam impactados por essa atividade (SANCHEZ & FORMOSO, 1990). Muitas áreas foram simplesmente abandonadas gerando diversos problemas, que incluíram, entre outros, geração de drenagem ácida de mina, impacto visual, erosão e liberação de gases para a atmosfera, cujos impactos ainda persistem na região de extração de carvão (PRSC, 2007). Além disso, nos solos degradados observa-se intensa remoção dos horizontes superficiais do solo com conseqüente redução da matéria orgânica, causando sérios problemas na estrutura, disponibilidade de água e atividade biológica do solo, o que prejudica o suprimento de nutrientes essenciais como o P, S e principalmente N (DIAS *et al.*, 2005).

A revegetação das áreas impactadas com espécies arbóreas pioneiras como a bracatinga (*Mimosa scabrella*) e o cedro (*Cedrela fissilis*) é uma alternativa de baixo custo de implantação e manutenção que auxilia no processo de recuperação de áreas degradadas, já que se conhece que estas apresentam rápido crescimento em ambientes degradados (SANCHEZ *et al.*, 2003), além de terem a capacidade de realizar simbioses mutualistas com os FMA (STOFFEL *et al.*, 2016; ROCHA *et al.*, 2006). Desta forma,

há grande potencial de emprego da simbiose na produção de mudas que favorecerá a formação de uma cobertura vegetal, visando o controle dos processos erosivos e a recuperação das propriedades do solo, bem como aumentar a atividade biológica importante para o restabelecimento dos ambientes impactados (SIQUEIRA *et al.*, 2007).

Nos últimos anos tem sido destacado o papel de substratos orgânicos pirolisados (biocarvão) na melhoria das condições físico-químicas do solo (LEHMANN *et al.*, 2011; WARNOCK *et al.*, 2007). Esse produto é obtido pela pirólise lenta de compostos carbonados, o qual tem sido relatado como benéfico no aumento da capacidade de retenção de água, aumento no teor de carbono e aumento no pH do solo, com conseqüente redução da lixiviação de contaminantes (GASKIN *et al.*, 2008). Além disso, pelo seu caráter poroso, o biocarvão tem potencial de aumentar as populações microbianas do solo os quais apresentam vários mecanismos de promoção do crescimento vegetal (JOSEPH *et al.*, 2010). Entretanto, os efeitos do biocarvão dependem da quantidade adicionada ao substrato de cultivo, tipo de solo e espécie vegetal de interesse (GUNDALE & DELUCA, 2006; WARNOCK *et al.*, 2007). Ainda não estão bem elucidados os mecanismos de interação entre o biochar e os microorganismos do solo (ELZOBAIR *et al.*, 2016). No caso da interação biochar-FMA se tem encontrado resultados variáveis no desenvolvimento dos fungos, com relatos em que não se verificou diferenças entre a aplicação e o controle (DOMENE *et al.*, 2014), onde houve aumento na colonização micorrizica após a adição de biocarvão (HAMMER *et al.*, 2015) e, finalmente onde o desenvolvimento foi afetado negativamente (WARNOCK *et al.*, 2007). Desta forma, há a necessidade de se avaliar as interações biocarvão x FMA na produção de mudas de espécies arbóreas de interesse na recuperação ambiental.

4.2. OBJETIVOS

4.2.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência do biocarvão na simbiose de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em mudas das espécies arbóreas de bracatinga e cedro, destinadas a programas de recuperação de áreas impactadas pela atividade de mineração de carvão na região do extremo-sul do estado de Santa Catarina.

4.2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da inoculação de FMA em mudas de espécies arbóreas destinadas à revegetação de áreas impactadas pela mineração de carvão.
- Avaliar o efeito da aplicação de doses de biocarvão na colonização micorrízica e esporulação de diferentes espécies de FMA

4.3. MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio independentes foram conduzidos em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFSC envolvendo a produção de mudas de duas espécies arbóreas nativas da região sul do Brasil: *M. scabrella* e *C. fissilis*, em solo de área de mineração de carvão em recuperação contendo biocarvão e inoculantes de FMA. Ambos os ensaios seguiram o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 X 5: cinco concentrações de biocarvão no solo (0%, 1%, 2,5%, 5%, 10% v/v) e cinco tratamentos de inoculação com FMA (*Acaulospora morrowiae* SCT400A, *Gigaspora albida* SCT200A, *Rhizophagus clarus* RJ102A, a mistura dos três FMA e um tratamento controle sem propágulos de FMA) totalizando 25 tratamentos por espécie arbórea. Os isolados de FMA empregados neste experimento pertencem à Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (www.furb.br/cicg) que já foram testados na produção de inoculantes para vários setores agrícola e florestal como

parte das atividades do projeto PRONEM/FAPESC/CNPq coordenado por aquela instituição e com colaboração do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFSC. Para a bracatinga foram preparadas 10 repetições por tratamento, enquanto que para o cedro foram cinco repetições.

A produção das mudas foi realizada em casa de vegetação e, para isso, sementes de ambas as espécies arbóreas foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 2% durante dois minutos e posteriormente etanol 70% por um minuto. A quebra da dormência foi realizada seguindo procedimentos diferentes para cada espécie. Para a bracatinga, as sementes foram submersas em água a 80 °C por 20 min, e, posteriormente, mantidas em água à temperatura ambiente por 12 horas. Para o cedro, as sementes foram colocadas em água à temperatura ambiente durante 72 horas, sendo a água trocada a cada 12 horas e posteriormente pré-germinadas em areia estéril durante 7 dias a 25 °C.

A semeadura foi realizada em tubetes com capacidade de 300 cm³ (tipo Jumbão) contendo solo da região carbonífera de Criciúma-SC, coletado da área de empréstimo utilizada para a revegetação de áreas degradadas após retirada do rejeito de mineração e foi peneirado em malha de 2 mm. Uma subamostra desse solo foi submetida à análise de fertilidade do solo para caracterização química, segundo metodologias propostas por Tedesco *et al.* (1995). Os valores encontrados foram: pH 3,97, 51 mg kg⁻¹ solo de potássio, 53,6 de P, 4,63 cmol_c dm⁻³ de alumínio, 2,96 cmol_c dm⁻³ de magnésio, 39 g kg⁻¹ solo de matéria orgânica, 267,9 g kg⁻¹ solo de areia, 443,2 g kg⁻¹ solo de silte e 288 g kg⁻¹ solo de argila.

O solo foi adubado com superfosfato triplo de modo a fornecer 0,05 g kg⁻¹ solo de P. O substrato foi obtido misturando-se solo das áreas de mineração as respectivas concentrações de biocarvão (1, 2,5, 5 10%, v/v). O biocarvão utilizado foi fornecido pela empresa SPPT Pesquisas Tecnológicas Ltda, localizada na cidade de Mogi Mirim-SP produzido a partir da pirólise de cama de aviário em temperatura de 400 °C e com densidade de 371,25 g L⁻¹

¹, cujas características físico-químicas da matéria prima e do biocarvão são apresentadas na tabela 1.

Durante a condução experimental, as mudas foram semanalmente irrigadas com solução de Hoagland & Arnon (1950) sem P para o cedro e sem N e P para a bracatinga. Para esta última espécie arbórea foi realizada inoculação mista com rizóbios no momento da semeadura, aplicando-se 1 mL dos isolados UFSC-B6, UFSC-B9, UFSC-B16 (pertencentes à coleção desse laboratório) e com *Burkholderia nodosa* (BR3437) fornecido pela Embrapa Agrobiologia de Seropédica-RJ. Estes isolados foram selecionados com base em estudos prévios que demonstraram os benefícios destes rizóbios para o crescimento e fornecimento de N para a bracatinga (MOURA *et al.*, 2016). Após 10 semanas da semeadura, constatou-se a ausência de nódulos na bracatinga e a ocorrência de sintomas de deficiência de N e, por esta razão, iniciou-se a aplicação semanal de 10 mL da solução Hoagland Arnon contendo 22,5 mM de N.

Tabela 1: Caracterização físico-química do biocarvão e da matéria-prima a partir da qual foi gerado (cama de aviário).

		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

Os FMA empregados foram previamente caracterizados quanto à densidade de esporos pela metodologia de peneiramento úmido (GENDERMANN & NICOLSON, 1963) e centrifugação com gradiente de sacarose (IANSON & ALLEN, 1986). A inoculação dos FMA foi realizada mediante a aplicação de 10 mL de solo-inoculo na superfície do tubete em contato com as sementes. O número de esporos por cada 50 cm³ de substrato foi de 400, 150 e 2100 no solo-inoculo de *G. albida*, *R. clarus* e *A. morrowiae* respectivamente. No tratamento contendo a mistura de FMA foi inoculado 10 ml de cada isolado por tubete.

As mudas foram produzidas até que as raízes colonizaram todo o tubete, sendo o experimento com o cedro conduzido por 12 semanas após a semeadura, em quanto a bracatinga foi por 15 semanas. Ao final destes períodos os tubetes foram desmontados e posteriormente foram avaliados os efeitos dos tratamentos sobre o crescimento das plantas (altura e diâmetro do colo). O teor de P foi quantificado por colorimetria utilizando o método fosfo-molibdato, conforme descrito em Malavolta et al. (1989).

Foram coletados aproximadamente 1 g de raízes finas para quantificação da colonização micorrízica. Segmentos de raízes, de 1,0 cm aproximadamente, foram lavados com água destilada, cortados em frações de aproximadamente 1,0 cm de comprimento e corados com azul de tripano, segundo o método descrito por Phillips e Hayman (1970). Posteriormente foram analisadas com estereoscópio, utilizando o método da interseção em placa quadriculada (GIOVANETTI e MOSSE, 1980). Para testar se existe relação entre a esporulação e a concentração de biocarvão. Foi avaliado o número total de esporos em cada tratamento, pelo método de peneiramento úmido (GENDERMANN & NICOLSON, 1963) e centrifugação em gradiente de sacarose (IANSON & ALLEN, 1986). Esse procedimento foi realizado com uma subamostra ao acaso de 3 tubetes de cada tratamento, escolhidos ao acaso, Para os tratamentos com a mistura dos fungos foi realizada

uma contagem por espécie, as quais foram identificadas por meio de características morfológicas de família conforme o INVAM.

Antes da semeadura foi avaliado o pH do solo pela metodologia proposta pela EMPRAPA, 2000. Após da colheita, no solo das amostras que foram selecionadas para a contagem de esporos, foi medido igualmente o pH.

Todos os dados obtidos foram submetidos às provas de normalidade e homogeneidade das variâncias. Foi realizada uma análise de variância para cada variável, os dados que apresentaram interação entre os fatores passaram por uma análise de regressão polinomial para as concentrações de biocarvão e os dados onde só houve diferenças entre os fatores foram submetidos ao teste de comparação de médias de Tukey com um nível de significância de 0,05. Para correlacionar as variáveis avaliadas se realizou a PCA para cada espécie vegetal. Para isso, foi utilizado o programa estatístico R e as análises de regressão por meio do programa SigmaPlot 12 (Systat Software Corp.).

4.4. RESULTADOS

4.4.1 pH do solo

Os efeitos da inoculação dos FMA com o biocarvão no pH do solo foram diferenciados para cada espécie vegetal (Fig 1). Embora o solo das duas plantas teve um aumento do pH, somente no cedro houve interação entre os fatores quando este foi inoculado com FMA. No cedro verificou-se que o pH foi menor na maior concentração de biocarvão no tratamento não inoculado (Fig 1B), e no caso de *G. albidus* houve um aumento significativo no tratamento com 1% de biocarvão. No tratamento sem inoculação houve um descenso no pH de 24,3% entre o tratamento com a concentração de 5% e de 10%. Na bracatinga o aumento do pH foi diretamente proporcional à quantidade de biocarvão aplicado, independentemente dos tratamentos de inoculação de FMA (Fig 1A). Neste caso,

houve um incremento do pH de 23,2% no tratamento com a concentração de 10% comparado com o tratamento sem biocarvão .

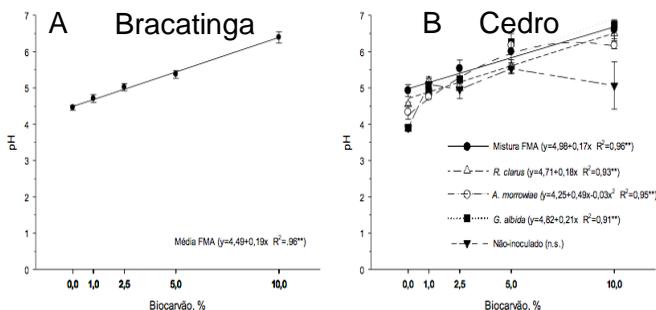


Fig 1: pH no solo após da semeadura de bracatinga e cedro de 12 e 13 semanas de crescimento respectivamente inoculadas com *A. morrowiae*, *G. albida*, *R. clarus*, mistura dos três fungos e sem inocular. As barras representam o erro padrão da média. Os valores n.s. são para os dados não significativos.

4.4.2 Colonização e esporulação dos FMA

A colonização micorrizica dos FMA foi dependente da espécie vegetal e dos tratamentos de inoculação na bracatinga e a esporulação no cedro (Fig. 2). No tratamento controle sem inoculação não foi verificado a presença de estruturas de FMA, evidenciando a ausência de contaminação durante a condução experimental. Verificou-se o efeito significativo da interação biocarvão-FMA sobre a colonização para as duas espécies vegetais (Fig. 2A e 2B).

Na bracatinga a colonização micorrizica foi inversamente proporcional à quantidade de biocarvão nos tratamentos maiores a 2,5% (Fig 2A). Nos tratamentos inoculados houve uma redução média de 51,3% na colonização micorrizica da bracatinga no tratamento com 10% de biocarvão em relação ao controle.

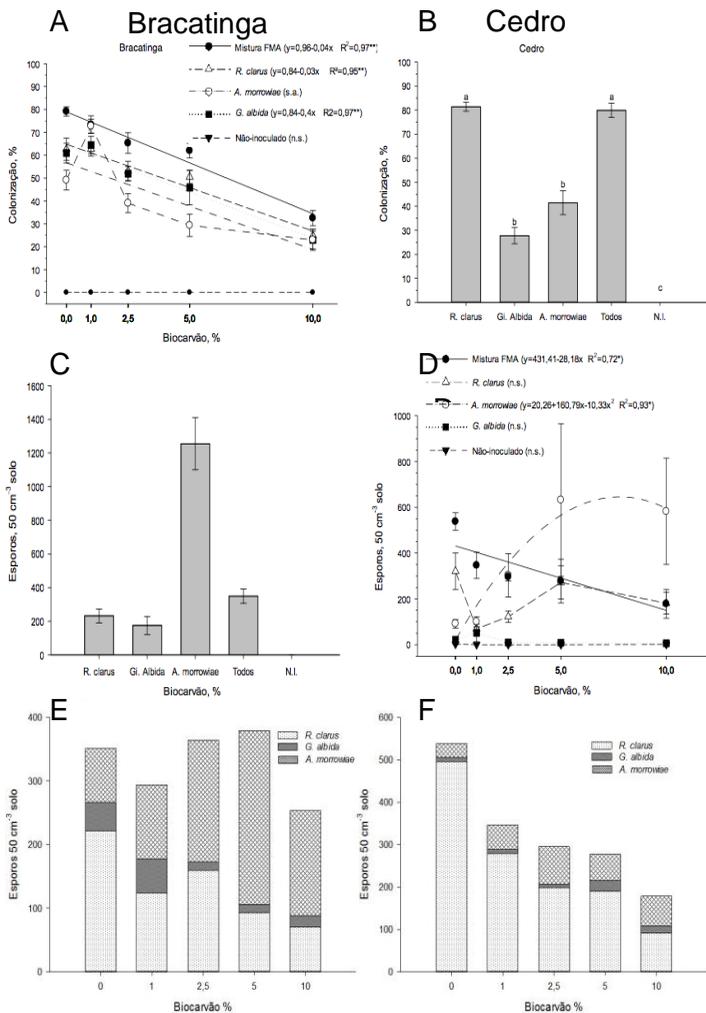


Fig 2: Porcentagem de colonização micorrizica, número de esporos e quantificação diferencial de esporos por espécie nos tratamentos com todos os FMA dos fungos *R. clarus*, *G. albida*, *A. morrowiae*, e mistura dos três fungos nas diferentes concentração de biocarvão em bracatinga e cedro após de 15 semanas da sementeira. As barras representam o erro padrão da

média. Os valores n.s. são para os dados não significativos e os s.a. para os dados sem ajuste.

Ao contrário do que foi observado para a bracatinga, o cedro apresentou elevada colonização micorrizica mesmo em altas concentrações de biocarvão, com colonização micorrizica superior a 70% principalmente nos tratamentos inoculados com *R. clarus* e a mistura de FMA. Os tratamentos inoculados com *A. morrowiae* foram diminuindo com a adição de biocarvão a colonização micorrizica variando 47,2 % entre os tratamentos sem biocarvão e na concentração de 10%. Os tratamentos inoculados com *G. albida* foram pouco influenciados pela adição de biocarvão na colonização micorrizica variando somente 29,5% (Fig 2B).

O número de esporos teve interação entre os fatores no cedro para os tratamentos com todos os fungos e inoculado com *A. morrowiae*. Na bracatinga houve diferenças somente entre os fungos, onde os tratamentos com todos os fungos e com *A. morrowiae* apresentaram uma diferença significativamente maior aos outros tratamentos (Fig 2C e 2D).

No cedro, nos tratamentos inoculados com todos os fungos houve um decréscimo no número de esporos quando a dose de biocarvão foi aumentando, diminuindo 67% na concentração de 10% comparado com o tratamento sem biocarvão. O tratamento inoculado com *A. morrowiae* apresentou uma variabilidade muito alta, mas o número de esporos foi aumentando até a dose de 5%, nesse ponto se estabilizou. O número de esporos nestes tratamentos aumentou mais de 500% nas concentrações de 5 e 10% comparado com o tratamento controle sem biocarvão (Fig 2D).

Na contagem diferencial dos fungos nos tratamentos com todos os fungos houve maior número de esporos de *A. morrowiae* na bracatinga e *R. clarus* no cedro (Fig 2E e 2F). Na bracatinga os esporos de *G. albida* e *R. clarus* foram diminuindo nas concentrações de biocarvão, diminuindo 60 e 60,4% respectivamente. Porém, os esporos de *A. morrowiae* incrementaram até a concentração de 5%,

onde houve um aumento de 224%; na concentração de 10% o aumento foi de 94% comparado com o tratamento controle sem biocarvão. No cedro os esporos foram diminuindo com o aumento da concentração de biocarvão, neste caso observou que o número de esporos de *A. morrowiae* e *G. albida* foi constante, mas os esporos de *R. clarus*, diminuíram 81% no tratamento com 10% de biocarvão. No caso do *R. clarus* esta diferença foi estatisticamente significativa

4.4.3 Crescimento das mudas

Encontrou-se que a altura das plantas (Fig 3), das duas espécies vegetais, apresentaram interação entre os dois fatores ($P < 0,05$). A bracatinga teve interação nos tratamentos sem inocular e na mistura. No caso do cedro a interação foi nos tratamentos sem inoculo, com *A. morrowiae* e *G. albida*. Embora as plantas tenham um crescimento proporcional à concentração de biocarvão, este comportamento somente foi evidenciado até o tratamento com 5%, a partir dessa concentração a altura se manter excetuando os tratamentos sem inoculação da bracatinga onde o crescimento sempre foi linear. No cedro, os tratamentos com *A. morrowiae* e *G. albida* na concentração de 2,5% as plantas tiveram um leve decréscimo.

O crescimento das plantas foi significativamente influenciado pela interação biocarvão-FMA (Fig 3). Para a bracatinga a altura das plantas foi favorecida pela adição de biocarvão nos tratamentos sem inoculação mista de FMA (Fig 3A). Para o cedro verificou-se incrementos de 65, 56 e 55% na concentração de 10% de biocarvão em relação ao controle para os tratamentos *A. morrowiae*, *G. albida* e não inoculado respectivamente (Fig 3B). A produção de MSPA da bracatinga apresentou incrementos de 30% na concentração de 2,5% no tratamento inoculado com todos os fungos, porem houve decréscimo quando se adicionou 10% de biocarvão nesse tratamento. Enquanto isso, a MSPA da bracatinga dos tratamentos

sem inoculo de FMA não foi influenciada pelas doses de biocarvão (Fig 2C).

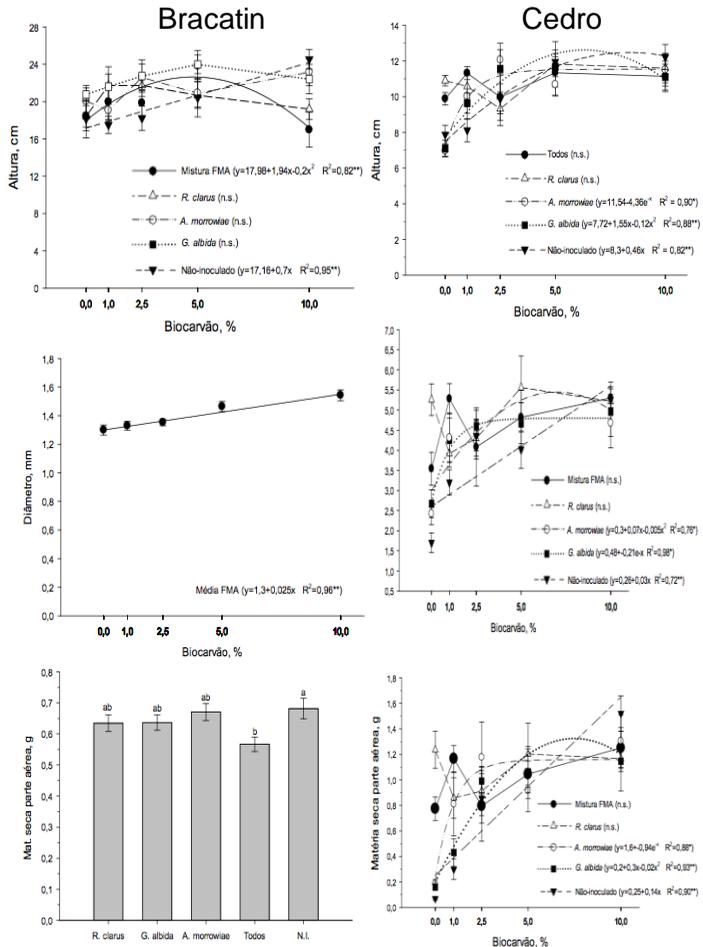


Fig 3: Crescimento de bracatinga e cedro os fungos *R. clarus*, *G. albida*, *A. morrowiae*, e mistura dos três fungos nas diferentes concentração de biocarvão após de 15 semanas da sementeira. As barras representam o erro padrão da média. Os valores n.s. são para os dados não significativos

Assim como observado para a altura das plantas, a MSPA do cedro foi favorecida pela aplicação do biocarvão nos tratamentos não inoculado e inoculado com *A. morrowiae* e *G. albida*, com incrementos de 2107, 608 e 619% respectivamente (Fig 3D).

No diâmetro houve interação entre os fatores no cedro, Na bracatinga não houve interação, mas sim houve diferenças significativas nos dois fatores (Fig 2). No cedro os tratamentos com *A. morrowiae* e *G. albida* tiveram um aumento de 97 e 85% no diâmetro na dose de 10% comparada com a dose controle sem biocarvão. No caso da bracatinga, aumento 20% diâmetro quando na concentração de 10% comparado com o tratamento controle.

4.4.4 Teor e acúmulo de P nas plantas

No teor de P houve interação entre os fatores para as duas plantas (Fig 4). Na bracatinga os tratamentos inoculados e o controle apresentaram os maiores teores na concentração de 10% de biocarvão, a exceção do tratamento inoculado com *R. clarus*, onde não houve diferenças significativas entre os tratamentos. O aumento foi de 96% para *A. morrowiae*, 28% para *G. albida*, 187% para a mistura e 215% para o tratamento sem inoculação. No cedro os tratamentos não apresentaram um aumento linear no teor de P. Os tratamentos com maior acúmulo de P foram os tratamentos de *R. clarus* na concentração de 1% onde apresentou um aumento de 110% comparado com o tratamento sem inoculação na mesma concentração e os inoculados com *A. morrowiae* na concentração de 5% onde a diferença foi de 96% comparado com o tratamento sem inoculação.

No acúmulo de P, ao igual que o teor de P, houve interação entre os dois fatores nas duas espécies vegetais. Na bracatinga observou-se um aumento no acúmulo quando a concentração de biocarvão aumentava excetuando o tratamento inoculado com *R. clarus* onde não

houve um aumento de 25% na concentração de 2,5 % e depois diminuiu. Os tratamentos de *A. morrowiae*, *G. albida*, a mistura dos FMA e o controle sem inoculação apresentaram o maior acumulo na concentração de 10%, sendo o aumento de 83, 9, 178 e 234% comparado com o control sem biocarvão. O tratamento sem FMA apresentou um acumulo 78% maior que os tratamentos inoculados na concentração de 10%. No caso do cedro, os tratamentos que apresentaram o maior acumulo foram os tratamentos com 10% de biocarvão, aumentando 35% no tratamento com *R. clarus*, 784% com *A. morrowiae*, 1929% com *G. albida*, 71% com a mistura e 4430% com o tratamento sem inoculo comprado com o tratamento controle sem biocarvão.

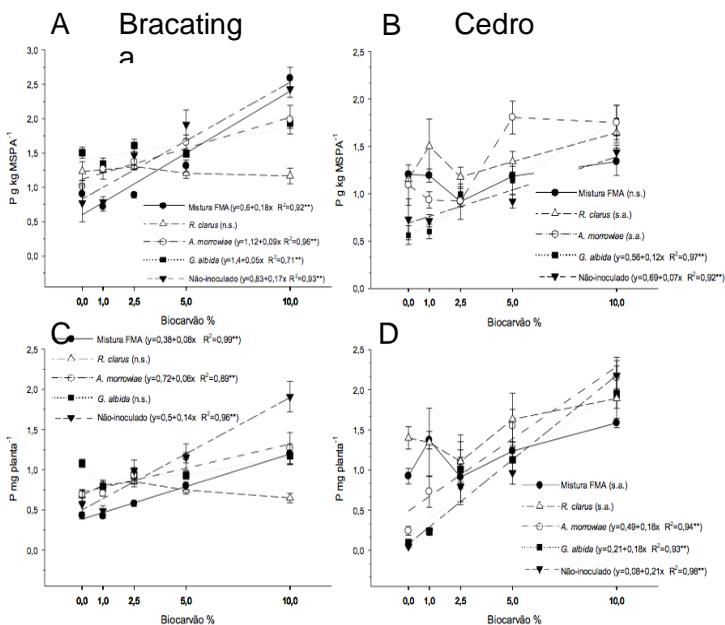


Fig 4: Teor e acumulo de P na bracatinga e cedro sem inoculação e com os fungos *R. clarus*, *G. albida*, *A. morrowiae*, com a mistura dos três fungos nas diferentes concentrações de

biocarvão após de 15 semanas da semeadura. As barras representam o erro padrão da média.

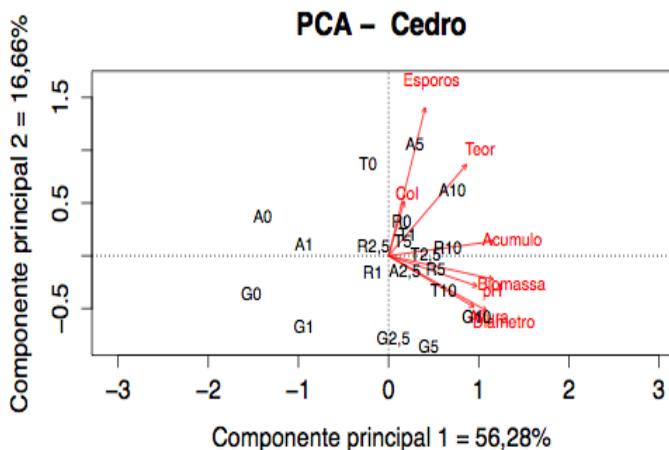
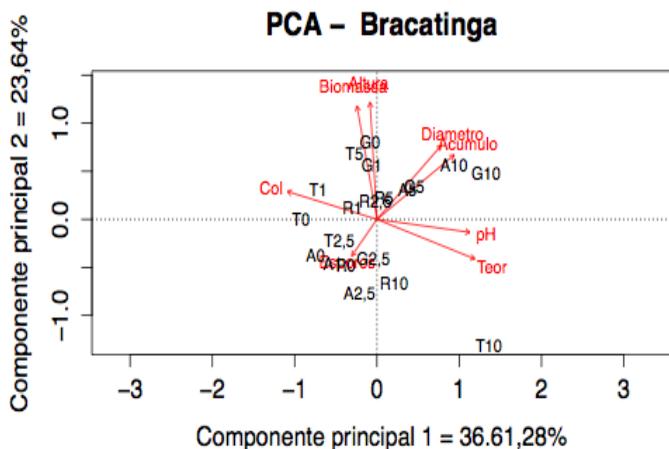


Fig 5: PCA de todos os tratamentos. A letra B indica bracatinga, a letra C indica cedro e o número indica a proporção de biocarvão com o solo sendo 0, 1, 2,5, 5 e 10%. Finalmente a última letra indica o tratamento com o fungo. Os tratamentos sem

letra final foram os tratamentos sem FMA, a letra A indica *A. morrowiae*, a letra G *G. albida*, a letra R *R. clarus* e a letra T e para os tratamentos com todos os fungos. As variáveis testadas foram diâmetro, pH, altura, biomassa, número de esporos em 50 ml de solo, porcentagem de colonização (Col), teor de P e acúmulo de P.

A análise de componentes principais (PCA) de todos os tratamentos demonstrou uma interação diferente entre as variáveis para cada espécie vegetal (Fig 5). Não foram incluídos os tratamentos sem inoculação devido à alta correlação entre o número de esporos e a colonização destes tratamentos o que poderia gerar uma falsa correlação nos outros tratamentos. Na bracinga as variáveis biomassa e altura, diâmetro do caule e acúmulo de P, junto com o pH e o teor de P estiveram correlacionadas entre elas. Além disso, observou-se que a porcentagem de colonização radicular foi inibida nos pH maiores, igualmente houve inibição no número de esporos e o acúmulo de P.

No cedro as variáveis da planta a exceção do teor de P (altura, diâmetro, biomassa e acúmulo de P) apresentaram uma correlação com o pH do solo. Por outro lado, as variáveis dos fungos se correlacionaram entre elas (porcentagem de colonização e número de esporos). O PCA também evidenciou que a colonização radicular não tem uma alta influência nas plantas.

Encontrou-se que as plantas das duas espécies vegetais apresentaram perda mais rápida das folhas após da terceira semana da semeadura, este comportamento nas plantas esteve presente durante todo o tempo que foi conduzido o experimento.

4.5 DISCUSSÃO

4.5.1. Efeito do biocarvão sobre a interação Planta-FMA

Nesta pesquisa verificou-se que houve comportamento diferenciado de cada espécie de FMA para as espécies arbóreas crescidas em substrato contendo

biocarvão e solo de área de mineração de carvão. Além disso, a concentração de biocarvão aplicada também influenciou a interação Planta-FMA quando avaliou-se a colonização micorrizica e a esporulação dos FMA. Sabe-se que essas variáveis são dependentes dos fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores abióticos que modulam a interação planta-fungo, os mais estudados são o pH (GREEN *et al.*, 1976; CLARK 1997), salinidade do solo (AROCA *et al.*, 2013; BENCHERIF *et al.*, 2015) e disponibilidade de nutrientes como o P (DOS ANJOS *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2013)

Além destes tem-se os fatores bióticos os quais determinam a extensão do micélio, a formação de arbúsculos, esporos e células de armazenamento. Estes fatores estão diretamente relacionados à espécie de FMA como a estratégia de crescimento de cada isolado fúngico (HART & KLIRONOMUS, 2002; GOLTAPPEH *et al.*, 2008). Além dos fatores biológicos dos FMA também se podem citar as espécies vegetais e seu genótipo, sendo que existe uma classificação do tipo de simbiose planta-FMA que depende da quantidade de P disponível no meio. Segundo esse critério, a interação se divide em três grupos: o primeiro são as plantas que ainda em altas doses de P não diminuem a colonização micorrizica (dependentes de FMA), o segundo grupo são as plantas que em altas doses do P inibem a colonização radicular (simbiose responsiva), e o terceiro grupo são as plantas que não fazem simbiose com os FMA (GERDEMANN, 1975).

Outro fator biológico que pode interferir no comportamento dos FMA são os exsudados da planta que determinam a interação inicial planta-fungo. Na presença destes há aumento da divisão celular, ramificação das hifas presimbóticas e maior atividade das mitocôndrias. Na ausência dos exsudados radiculares, há inibição na germinação dos esporos e as hifas germinativas contraem o citoplasma para sobreviver antes de perder as reservas de energia (GIANINAZI *et al.*, 2009).

As espécies que apresentaram maior benefício para as plantas foram *A. morrowiae* e *G. albida* para bracinga

e *R. clarus* no cedro o que indica que diferentes FMA tem preferências por algumas espécies de plantas. Isto já foi demonstrado por Pouyu-Rojas *et al* (2006), onde verificou-se que diferentes espécies de FMA apresentaram incompatibilidade a diferentes espécies arbóreas tropicais. No caso de *A. morrowiae*, a colonização radicular foi semelhante em ambas as espécies vegetais. Também se encontrou sinergismo entre o biocarvão e *A. morrowiae* na concentração de 1% nas duas espécies vegetais. Destacase que os tratamentos inoculados com *A. morrowiae* apresentaram uma tendência semelhante nas duas espécies vegetais. Com a maior colonização nos tratamentos de 1% de biocarvão.

Observou-se que a resposta dos FMA foi diferente nas mudas de uma espécie vegetal considerada dependente como o cedro (ROCHA *et al.*, 2006), e uma responsiva como a bracatinga (STOFFEL *et al.*, 2016). Encontrou-se que o biocarvão em diferentes doses pode inibir a colonização micorrízica na bracatinga, principalmente em doses superiores a 5%. No cedro a colonização micorrízica não foi inibida pelas doses de biocarvão e encontrou-se uma preferência por *R. clarus*. A resposta diferenciada entre as duas espécies vegetais poderia indicar que as plantas com maior dependência apresentam maior proteção aos fungos micorrízicos como foi evidenciado no PCA da bracatinga onde a colonização micorrízica foi inibida pelo acúmulo de P e o número de esporos pelo teor de P e pH altos, pelo contrario no cedro não se encontrou inibição nas variáveis dos fungos.

Nas duas espécies vegetais o maior número de esporos foi constatado nos tratamentos inoculados com *A. morrowiae* e *R. clarus*, já que estes naturalmente apresentam velocidade maior de reprodução como tem sido relatado por Hart e Reader (2002) que os isolados de *Acaulospora* spp. e *Glomus* spp. apresentam maior esporulação e maior produção de hifas em relação com os isolados da família Gigasporaceae, com hifas e esporos menores o que poderia indicar que as famílias Acaulosporaceae e Glomeraceae são estrategistas tipo R

e os membros da família Gigasporaceae são estrategistas tipo K (HART & KLIRONOMUS, 2002).

Na contagem diferencial dos fungos no tratamento com a mistura, houve uma diminuição dos esporos de *R. clarus* enquanto verificou-se aumento no número de esporos de *A. morrowiae*. No cedro, no tratamento sem biocarvão (controle), a relação do número de esporos foi de 15:1 entre *R. clarus* e *A. morrowiae* e esta foi reduzida para 1:1 na concentração de 10%. Esses resultados evidenciam que o *R. clarus* é muito mais susceptível à adição de biocarvão. No caso de *A. morrowiae*, todos os tratamentos com o fungo isolado apresentaram um elevado número de esporos, enquanto que na mistura de FMA, embora apresentando alto número de esporos, foi significativamente menor que os tratamentos com o fungo isolado, indicando que existe antagonismo entre os fungos testados.

Na bracinga a colonização micorrizica de todos os FMA foi decrescente, com concentrações de biocarvão maiores que 1%, mas não se encontrou correlação entre o número de esporos e a colonização micorrizica. Verificou-se que os tratamentos com maior colonização também apresentaram diminuição no número de esporos, o que pode estar relacionado com o pH, devido que altos valores de pH podem inibir a germinação dos esporos (GREEN *et al.*, 1976; MALCOVA *et al.*, 1998; HART & READER, 2002). Este comportamento foi verificado nos tratamentos inoculados com *A. morrowiae* e *G. albida* na concentração de 1%. No cedro, houve redução no número de esporos nos tratamentos inoculados com *G. albida* na concentração de 5% de biocarvão. Nesta concentração a colonização radicular foi maior. Isto corrobora os resultados obtidos por Green *et al.* (1976) os quais indicam que o pH ótimo para a germinação de esporos da família Gigasporaceae e próximo de 5,0 e onde em pH maiores há inibição do seu crescimento.

Em trabalho realizado Ferreira *et al.* (2015) com *Crotalaria juncea* verificou-se que a colonização micorrizica e a esporulação por *R. clarus* foi reduzida em 79 e 60%

com o aumento no fornecimento de P, respectivamente. Considerando que o biocarvão possui fosfato em sua superfície (SPOKAS *et al.*, 2010) e que o aumento do pH devido a adição do biocarvão no substrato aumenta a disponibilidade de P na planta, esses fatores podem ocasionar redução na colonização micorrizica de certos isolados de FMA.

4.5.2. Efeitos do biocarvão e FMA no crescimento das mudas

Tanto a adição de biocarvão como a inoculação de FMA teve um efeito benéfico nas plantas de bracatinga e cedro. Todas as variáveis responderam positivamente aos fatores. As plantas foram beneficiadas pela adição de biocarvão onde houve um incremento diretamente proporcional a adição de biocarvão principalmente nas doses de 1 e 2,5%. As espécies vegetais apresentaram benefícios diferentes segundo o fungo sendo maiores os benefícios de *R. clarus* em cedro e *G. albida* e *A. morrowiae* em bracatinga. A adição do biocarvão influenciou o aumento do pH do solo como já foi demonstrado em outros trabalhos (WARNOCK *et al.*, 2007; JOSEPH *et al.*, 2010; LECOY *et al.*, 2013).

Também se observou na bracatinga a relação entre o pH e o teor de P, posto que em solos argilosos o P pode ser imobilizado, principalmente pela formação de fosfato de ferro. Lembre-se que nos casos em que o pH aumenta apresenta-se também um aumento na solubilidade do P (PEÑA-VENEGAS *et al.*, 20007). Da mesma maneira, evidenciou-se a diminuição da colonização micorrizica com o aumento do teor de P e de pH, e, conseqüentemente, a diminuição da simbiose –no caso da bracatinga– quando o solo apresenta alta disponibilidade de P. No cedro no foi evidenciada a interação entre o pH e o teor de P, o qual é a resposta esperada numa especial vegetal dependente de FMA (GERDEMANN, 1975; JANOS 2007).

No presente estudo a resposta das plantas aos FMA e a adição de biocarvão foi positiva. Com relação ao

biochar o aumento no crescimento das plantas foi evidenciado até a concentração de 5%, o que poderia ser devido a compostos no biochar que poderiam inibir o crescimento da planta. Embora o análise do biocarvão (Tabela 1) não apresentou nenhum valor de metais pesados por cima do aceitado pela CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) o biocarvão pode conter compostos como o carvão ativado, que reduz a disponibilidade de nutrientes (GUNDALE & DELUCA, 2006), e fenol ou etileno, que poderiam gerar respostas prejudiciais na planta, como perda de folhas e senscência (BUSS e MASEK, 2014).

O biocarvão apresentou diferenças em todas as variáveis de crescimento avaliadas a exceção da MSPA da bracinga. Isto pode ser devido à constante perda foliar das mudas durante todo o experimento. O biocarvão apresenta altos teores de matéria orgânica além de contribuir com nutrientes secundários como o Ca, indispensável na parede celular (WHITE & BROADLEY, 2003), o Mg, que e uma dos compostos da clorofila (WILKINSON *et al.*,1990) e primários como o N na sua forma disponível (amónio) indispensável na sínteses de proteínas (PEARSON & STEWART, 1993).

Além destes nutrientes, o biocarvão apresenta fosfato na sua superfície, mas como o biocarvão apresenta porosidades a raízes das plantas não conseguem assimilar o P (SPOKAS, 2010). Quando o biocarvão e misturado com FMA, o micélio destes últimos cresce dentro das porosidades do biocarvão e disponibiliza o P para a planta (HAMMER *et al.*, 2014). Neste experimento este comportamento foi evidenciado nos teores de P e o acumulo de P, ja que aumentaram na presença do biocarvão. O P e um nutriente essencial para a planta ja que é uns dos maiores componentes dos ácidos nucleicos e o ATP, o que faz este nutriente essencial na divisão celular e no crescimento vegetal (PRATT *et al*, 2009).

A inoculação de FMA favoreceu o crescimento vegetal, mas apresentou diferenças entre as espécies vegetais e a concentração de biocarvão. Encontrou-se que

R. clarus foi inibido em todas as concentrações de biocarvão. Estudos como o de Ferreira *et al.* (2015) encontraram que o crescimento de *R. clarus* é inibido na presença de altos teores de P no solo. Quando *R. clarus* foi inoculado no tratamento sem biocarvão gerou os maiores benefícios para a planta. Também houve sinergismo no tratamento com todos os fungos na concentração de 1%. Na bracinga encontrou-se que o tratamento da mistura dos FMA na concentração de 10% foi 14% menor que o tratamento sem inoculação. Isto poderia indicar que nesta concentração a relação planta-fungo não foi de mutualismo mas sim de parasitismo. Baslam *et al.* (2013) descreveu como as plantas de *Lactuca sativa* diminuíram o tamanho quando foram inoculadas com FMA no inverno.

Na bracinga os tratamentos inoculados com *G. albida* sem biocarvão apresentaram um aumento de 94% comparado com os outros tratamentos na mesma concentração de biocarvão. Isto além de demonstrar uma alta eficiência entre a bracinga e *G. albida*, também indica que nem sempre os estrategistas *r* os quais apresentam colonização radicular mais rápida e micélio mais fino, têm vantagens sobre os estrategistas *k* como a *G. albida* (HART & READER, 2002).

4.6. CONCLUSÕES

- A inoculação de FMA e a adição de carvão beneficiam o crescimento de mudas de bracinga e cedro em substrato contendo solo de área de mineração de carvão.
- Os isolados de FMA mais eficientes para bracinga foram *A. morrowiae* e *G. albida*, enquanto para o cedro foi *R. clarus*, independentemente da concentração de biocarvão.
- Houve inibição da colonização micorrizica em altas concentrações desse material no substrato principalmente para a bracinga apesar dos benefícios

do biocarvão para o crescimento das mudas.

- Para a produção de mudas destinadas à revegetação de áreas degradadas pela mineração de carvão são recomendadas concentrações inferiores a 5% de biocarvão.

5. CAPÍTULO 2: Micorrizas arbusculares e fosfato no crescimento de espécies arbóreas em solo de áreas de mineração de carvão.

5.1. INTRODUÇÃO

A extração de carvão mineral representa uma importante atividade econômica no sul brasileiro principalmente no setor termelétrico, sendo a extração deste material no ano de 2013 de 33 mil toneladas (CPRM, 2010; DNPM, 2014). A mineração a seu aberto gera a remoção da camada estéril do solo o que dificulta o estabelecimento da vegetação e favorece a contaminação dos ecossistemas adjacentes junto com a exposição de minerais sulfatados que acidificam os corpos d'água gerando a drenagem ácida de mina, erosão e emissão de gases efeito estufa (GOMES *et al.*, 2008; LOPES *et al.*, 2009). Calcula-se que a mineração de carvão no estado de Santa Catarina tem gerado mais de 6700 ha de áreas degradadas e a contaminação de 2/3 dos cursos de água pela presença dos rejeitos nos aquíferos (JICA, 1997).

No processo de recuperação das áreas degradadas é primordial a construção topográfica da paisagem, conformação e a drenagem do terreno para estabelecer as condições adequadas no solo que garantam o desenvolvimento da vegetação. Por isso é necessário remover o rejeito de mineração ou a adição de uma camada de argila compactada para isolar o material contaminante. Após este processo ser finalizado as áreas são cobertas com uma camada de solo de 5 a 10 cm de espessura proveniente de áreas de empréstimo. Estes são solos pobres que precisam ser adubados com N, P e K (ROCHA-NICOLEITE *et al.*, 2013). Sendo que tanto a deficiência como o excesso de nutrientes pode ser prejudicial para a planta e os microrganismos do solo (NAGY *et al.*, 2008).

Uma das alternativas para diminuir o efeito da mineração e recuperar as áreas degradadas é a revegetação. Esta auxilia o processo de recuperação das

áreas degradadas com a implementação de cobertura vegetal (NASCIMENTO & BIONDI, 2008), propiciando benefícios tais como; proteção contra a radiação solar, mantendo as temperaturas mais baixas, reduzindo a perda de água por evaporação; maior ciclagem de nutrientes, além de beneficiar a atividade biológica (GASSEN & GASSEN, 1996). As espécies vegetais selecionadas para implantação devem se adaptar às condições do solo e o ambiente, sendo ideais espécies pioneiras como bracatinga (*Mimosa scabrella*) e o cedro (*Cedrela fissilis*) que apresentem capacidade associação com comunidades de microorganismos simbiotes tais como fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e no caso da bracatinga com bactérias fixadoras de N₂ (BFN) (FRANCO *et al.*, 1995; FRANCO & FARIA, 1997; SIQUEIRA *et al.*, 2007).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são simbiotróficos obrigatórios pertencentes ao filo Glomeromycota (SCHÜBLER *et al.*, 2001) e são capazes de colonizar as raízes da maioria das plantas terrestres, formando uma associação simbiótica mutualística denominada micorrizas arbusculares (MA). Os FMA são cosmopolitas, com ocorrência abundante mesmo em áreas com elevado grau de degradação (KLAUBERG-FILHO *et al.*, 2005; STÜRMER & SIQUEIRA, 2008). Estes permitem a absorção de água e nutrientes fora da zona de esgotamento que surge devido à maior absorção de nutrientes ao redor das raízes (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), além de favorecer a aquisição de N₂ atmosférico nas plantas nodulíferas (JESUS *et al.*, 2005; SOARES & MOREIRA, 2010).

Nos solos degradados os FMA podem ter um potencial de inocula mais baixo sem estes não estão adaptados as condições do solo (HART & READER, 2004). Desta forma, há a necessidade de se avaliar a interação dos isolados de FMA com a bracatinga e o cedro em diferentes concentrações de P em solos sem esterilizar de áreas de recuperação da região carbonífera da Criciúma.

5.2. OBJETIVOS

5.2.1. Objetivo Geral

Avaliar a interação dos isolados de FMA com bracatinga e cedro em diferentes concentrações de P em solo não esterilizado de áreas de mineração de carvão em recuperação na região carbonífera de Criciúma-SC.

5.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da inoculação de FMA em mudas de bracatinga e cedro em solos com FMA nativos do solo da região carbonífera de Criciúma.
- Avaliar o efeito da adubação de P no desenvolvimento dos FMA.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFSC envolvendo a inoculação de FMA visando a revegetação de áreas de mineração de carvão com espécies arbóreas em diferentes concentrações de P no solo. Foram desenvolvidos dois experimentos independentes para cada espécie vegetal (*M. scabrella* e *C. fissilis*) em delineamento inteiramente casualizado em esquema 3x6: três concentrações de P no solo (0 mg kg⁻¹ P solo, 50 mg kg⁻¹ P solo e 200 mg kg⁻¹ P solo) e o seis tratamentos de inoculação de FMA (*Acaulospora morrowiae* SCT400A, *Gigaspora albida* SCT200A, *Rhizophagus clarus* RJ102A, *Acaulospora colombiana* SCT115A, *Claroideoglossum etunicatum* SCT101A e um tratamento controle não inoculado) totalizando 18 tratamentos por espécie. No experimento com a bracatinga foram empregadas 10 repetições por tratamento, enquanto para o cedro foram cinco repetições.

5.3.1 Implantação e condução experimental

As sementes de bracatinga e cedro foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 2% por dois minutos. Para o caso de bracatinga foi realizada uma quebra de dormência das sementes em água a 80 °C por 20 min e mantidas em água à temperatura ambiente por 12 horas, e para o caso do cedro foi colocado em água a temperatura ambiente por 72 horas trocando-se a água a cada 12 horas e posteriormente foram prégerminadas em areia estéril por 7 dias a 25 °C. As sementes foram semeadas em tubetes com capacidade de 175 cm³ contendo solo da região carbonífera de Cricuíma-SC misturado com biocarvão na proporção 2,5% (base volume) visando a melhoria das condições físico-químicas do solo. Esta concentração foi definida com base nos resultados do experimento 1. Neste estudo não foi realizada a correção do pH e o solo não foi esterilizado para avaliar a capacidade dos FMA de competir com os FMA nativos. Para o caso específico da bracatinga, foi realizada uma inoculação mista com bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) no momento da semeadura, aplicando-se 1 mL dos isolados UFSC-B6, UFSC-B9, UFSC-B16 e BR3437. Durante a condução experimental, as mudas foram semanalmente irrigadas com solução de Hoagland & Arnon (1950) sem P para o cedro e sem nitrogênio e P para a bracatinga. Após 8 semanas de crescimento, constatou-se a ausência de nódulos na bracatinga com o aparecimento de deficiência de N. Após este período iniciou-se a aplicação semanal de solução de Hoagland Arnon contendo 22,5 mM de N.

Os isolados de FMA empregados pertencem à coleção de Glomeromycota da FURB sendo os inóculos previamente caracterizados para a determinação do número de esporos segundo a metodologia de peneiramento úmido e centrifugação em gradiente de sacarose. No momento da semeadura foi realizada a aplicação de 10 ml de solo inoculo na superfície dos tubetes misturando-se com o substrato testado.

5.3.2 Avaliações

As mudas foram produzidas até que as raízes colonizarem todo o tubete, sendo o experimento com o cedro conduzido por um período de 12 semanas enquanto para a bracatinga foi de 13 semanas.

Ao final destes períodos os tubetes foram desmontados e foi coletado aproximadamente 1 g de raízes finas que foram cortadas em segmentos de 1,0 cm aproximadamente de comprimento, foram lavadas com água destilada e coradas com azul de tripano, segundo o método descrito por Phillips e Hayman (1970). Posteriormente foram analisadas com estereoscópio, utilizando o método da interseção em placa quadriculada (GIOVANETTI e MOSSE, 1980). Além disso foi avaliado o número inicial de esporos, pelo método de peneiramento úmido e centrifugação em gradiente de sacarose (ANSON & ALLEN, 1986) Se fez uma identificação morfológica dos fungos do solo para conhecer a comunidade inicial de FMA.

Posteriormente foram avaliados os efeitos dos tratamentos sobre o crescimento das plantas (altura e diâmetro do colo). O teor de P foi quantificado por colorimetria utilizando o método fosfo-molibdato, conforme descrito em Malavolta et al. (1989)

Todos os dados obtidos foram submetidos às provas de normalidade e homogeneidade. Foi realizada análise de variância para cada ensaio e posteriormente os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias de Scott-Knott. Para isso, foi utilizado o programa estatístico Sisvar.

5.3 RESULTADOS

Os efeitos da inoculação de diferentes espécies de FMA com diferentes doses de P no crescimento das plantas são apresentados na Fig 6. A altura das plantas de bracatinga apresentou interação entre os dois fatores

($P < 0,05$), enquanto no cedro não houve diferenças significativas entre e dentro dos fatores. Na bracatinga, os tratamentos com maior altura foram o inoculado com *A. morrowiae* e o controle nas doses de 50 mg kg⁻¹ de P, apresentando incremento médio foi 29,5% comparado com os demais tratamentos.

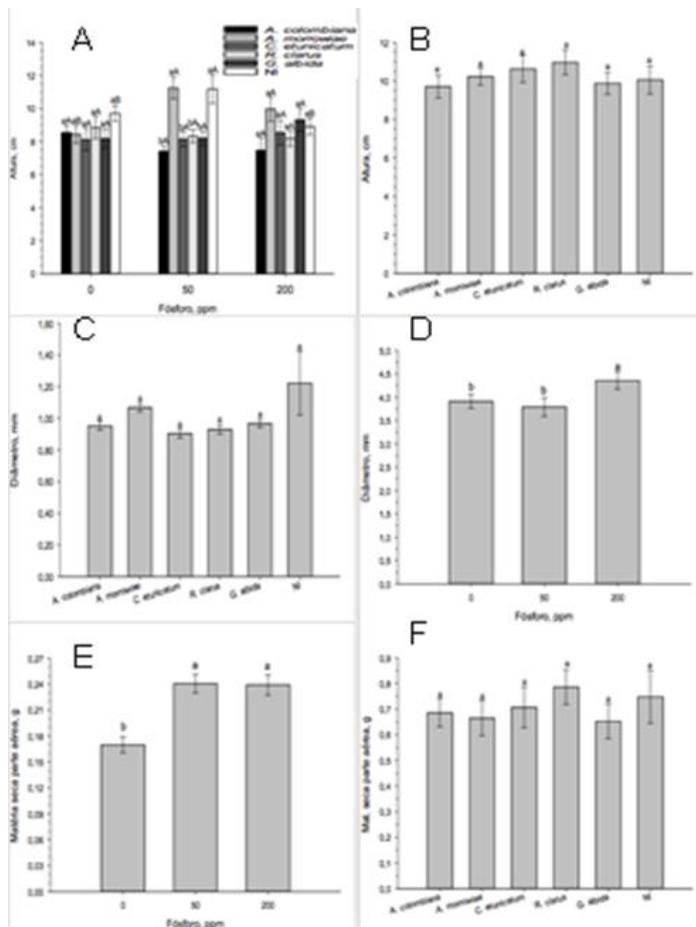


Fig 6: Altura, diâmetro e massa seca da parte aérea das plantas de bracatinga (A, C e E respectivamente) e cedro (B, D, F) com os

FMA *A. colombiana*, *A. morrowiae*, *C. etunicatum*, *R. clarus*, *G. albida* e sem inoculação (NI) nas diferentes concentrações de P após de 13 e 12 semanas da sementeira respetivamente. Letras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo test de Scott-Knott. As letras maiúsculas separam as médias entre as doses de P e as minúsculas as médias entre os tratamentos de FMA. As barras representam o erro padrão da média.

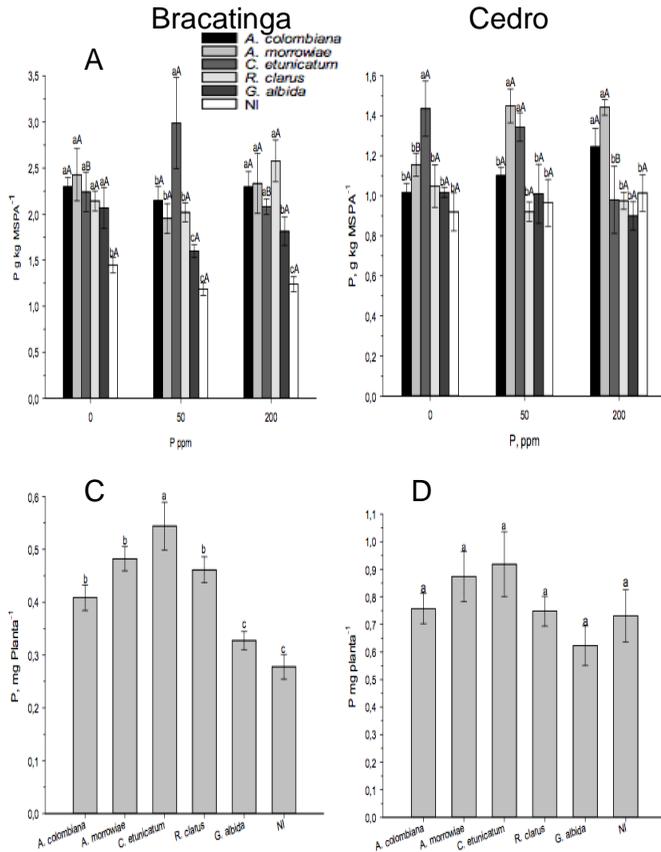


Fig 7: Teor e acúmulo de P na bracatinga (A e C respetivamente) e cedro (B e D) com os fungos *A. colombiana*, *A. morrowiae*, *C. etunicatum*, *R. clarus*, *G. albida* e sem inoculação (NI) nas diferentes concentrações de P após de 13 e 12 semanas da

semeadura respectivamente. Letras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo test de Scott-Knott. As barras representam o erro padrão da média.

No caso do cedro houve diferenças significativas somente no fator dose de P, onde se encontrou que com uma adição de 200 mg kg⁻¹ P as mudas tiveram incremento no diâmetro de 12%. Na bracatinga, embora as maiores médias foram verificadas nos tratamentos com *A. morrowiae* e no tratamento controle houve alta variabilidade dentro dos tratamentos o que não permitiu encontrar diferenças significativas entre os mesmos.

Em relação ao peso seco da parte aérea na bracatinga encontraram-se diferenças significativas apenas entre as doses de P.

Observou-se que a adição de P gera um aumento significativo no crescimento da bracatinga. No cedro não foram encontradas estas diferenças. Os tratamentos sem inoculação, nessa planta, teve um comportamento semelhante a aqueles inoculados para todas as doses de P.

No teor de P houve interação entre os fatores para as duas plantas (Fig 7). Na bracatinga as plantas com maior teor foram do tratamento inoculado com *C. etunicatum* na dose de 50 mg kg⁻¹ solo. Para os outros tratamentos inoculados não foi constatada diferenças significativas. Entretanto, no tratamento sem inoculação houve uma redução média de 69% para esta variável.

Em relação aos tratamentos de FMA, no cedro houve um comportamento diferenciado nos fungos para as doses de P. Na dose sem adição de P o tratamento com maior teor foi o inoculado com *C. etunicatum*, na dose de 50mg kg⁻¹ P solo foram os tratamentos com *C. etunicatum* e *A. morrowiae*, finalmente na dose de 200 mg kg⁻¹ P solo foram os tratamentos com *A. morrowiae* e *A. colombiana*. Esses foram os tratamentos com maior teor de P e não houve diferenças significativas entre eles.

No acúmulo de P, no cedro, não houve diferenças significativas entre os tratamentos, devido a que houve variação muito grande dentro dos tratamentos. Pelo

contrário, na bracatinga houve diferenças dentro do fator fungo. Encontrou-se que as plantas inoculadas com *C. etunicatum* apresentaram um acúmulo de P 95% maior comparado com as plantas não inoculadas. Não houve diferenças estatísticas entre as plantas não inoculadas e as plantas com *G. albida*.

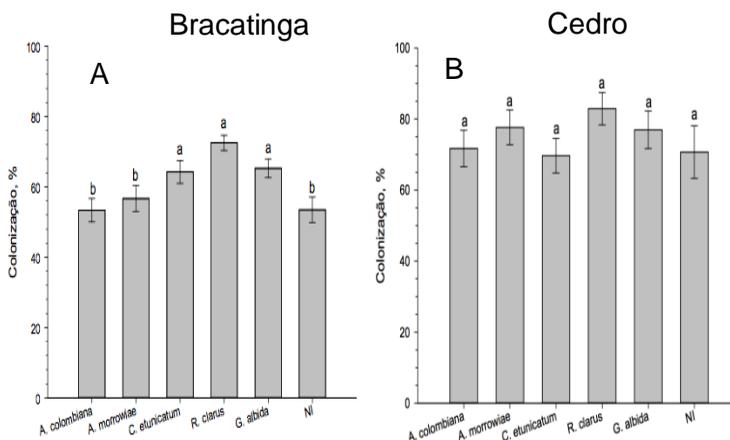


Fig 8: Porcentagem de colonização radicular na bracatinga (A) e cedro (B) com os fungos *A. colombiana*, *A. morrowiae*, *C. etunicatum*, *R. clarus*, *G. albida* e sem inoculação nas diferentes concentrações de P após de 13 e 12 semanas da sementeira respectivamente. Letras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo test de Scott-Knott. As barras representam o erro padrão da média

A porcentagem de colonização radicular foi alta nas duas espécies vegetais ainda no tratamento sem inoculação devido a que o solo não foi esterilizado o qual continha FMA autóctones das áreas de mineração o que possibilitou porcentagem de colonização micorrízica superior a 50% (Fig 8). No cedro não houve diferenças entre os fatores. No caso da bracatinga houve maior

colonização radicular nos tratamentos inoculados com os fungos *R. clarus*, *C. etunicatum* e *G. albida*. O tratamento inoculado com *R. clarus* teve um incremento na colonização de 36% comparado com tratamento sem inoculação. Foi avaliado o número total de esporos no solo antes de começar o experimento, encontraram-se 243 esporos. Somente foram quantificados os esporos vivos, mas não foi feito um teste de viabilidade de esporos.

5.4 DISCUSSÃO

No presente trabalho, encontrou-se que a adição de P no solo degradado pela mineração de carvão misturado com os FMA pode ser uma boa ferramenta para a revegetação destas áreas, já que é conhecido que os FMA conferem maior sobrevivência às espécies vegetais em ambientes com potencial estressante (SCHREINER, 2007). No caso das espécies pioneiras, como o cedro e a bracatinga, tem se demonstrado uma alta dependência à simbiose micorrizica, relacionada ao fato de possuir sementes pequenas com pouco ou nenhum endosperma (ZANGARO *et al.*, 2013; MATSUMOTO *et al.*, 2005).

Nos dois capítulos foi verificada inibição das BFN quando foram inoculadas na bracatinga. Spokas *et al.* (2010) demonstrou que o biochar contém doses de etileno produto da pirólise do benzeno e do metabolismo dos microorganismos do biocarvão. O etileno além de ser um hormônio vegetal pode inibir a nodulação em bactérias (OLDROYD *et al.*, 2001; MURRAY *et al.*, 2007). Os mecanismos de nodulação não estão completamente elucidados, mas começa com a secreção de um lipoquitooligosacarídeo bacteriano que induz a secreção e acumulação de citoquinas na raiz, o que gera uma cascata de sinais planta-bactéria. O etileno atua inibindo a acumulação de citoquinas (VAN ZEIJL *et al.*, 2015). Contudo, há alguns autores que apontam que o biocarvão pode sim ajudar na fixação de nitrogênio (MIA *et al.*, 2014; RONDON *et al.*, 2007). Os resultados encontrados neste estudo podem ser devido ao fato de que como o etileno é

um gás, e os solos utilizados no trabalho tinham altos conteúdos de silte, o que ocasiona elevada retenção de água que pode ocasionar baixa aeração no substrato (PARDOS, 2004), acarretando acúmulo de etileno com consequente efeito deletério sobre a nodulação.

A resposta dos tratamentos, como era de se esperar, foi dependente da espécie vegetal. Nesse sentido, a bracatinga foi influenciada frente a os fatores avaliados. Encontraram-se diferenças entre o dentro de quase todas as variáveis estudadas, apenas no diâmetro do caule não foram verificadas diferenças. Pelo contrário, o cedro somente apresentou diferenças no diâmetro e no teor de P.

No presente estudo, as plantas tiveram uma resposta diferente em relação à altura. No caso da bracatinga, os resultados foram semelhantes aos encontrados no capítulo 1, onde *A. morrowiae* gerou uma resposta positiva maior comparada com os outros fungos indicando que esse FMA apresenta uma alta afinidade com a bracatinga. No caso do tratamento sem inoculação, observou-se alta colonização radicular, esse fato pode estar relacionado com que os isolados não conseguiram competir com o inoculo nativo. Segundo Hart & Reader (2004), solos degradados apresentam baixo potencial de inóculo de FMA, no entanto, isso pode ser revertido com o tempo em função da alta capacidade adaptativa desses microrganismos. Desse modo, nesses solos podem-se desenvolver comunidades de microrganismos com alta eficiência na proteção e desenvolvimento das plantas.

O crescimento menor das plantas inoculadas pode ser devido a que os fungos que conseguiram se estabelecer estão ocupando nichos biológicos que usualmente ocupariam fungos adaptados às condições do solo, como descrito por Colombo *et al.* (2013). Naquele trabalho foram inoculados dois isolados geograficamente distantes de *Rhizophagus intraradices* em plantas de *Calamintha nepeta* com adubação e sem adubação de P. As sementes das plantas foram coletadas em estado silvestre e um dos isolados pertencia à mesma região da planta. Neste trabalho foi demonstrado que as plantas

apresentavam maiores benefícios dos FMA da mesma região geográfica, sugerindo que os fungos exógenos podem em determinadas condições se tornar parasitos para as plantas.

Foi evidenciado que a dose mais efectiva para a planta de bracatinga foi 50mg kg^{-1} P solo, indicando assim que tanto a falta como o excesso desse nutriente pode afetar negativamente o crescimento das mudas. Isso pode ser explicado com que o P é um nutriente essencial que, em baixas concentrações, ocasionaria limitações metabólicas para a planta; enquanto que em altas concentrações pode inibir a colonização micorrizica (NAGY *et al.*, 2008).

Tem-se encontrado que algumas plantas podem selecionar os FMA durante a simbiose micorrizica, fornecendo mais carbono aos fungos mais benéficos e suprimindo aqueles fungos menos competitivos (BEVER *et al.*, 2009). Porém, essa capacidade não é própria de todas as plantas. Grman (2012) descreveu que algumas plantas C4 não tinham essa característica. Desse modo, sugere-se que à diferença da bracatinga, o cedro tem a capacidade de inibir os fungos menos eficientes para a planta. A seletividade do cedro na simbiose com os FMA foi demonstrada por Pouyu-Rojas *et al* 2006, quem encontrou que a MSPA do cedro chegava a aumentar em 400% em casos de simbiose com os FMA mas foi seletivo com algumas espécies de FMA. No caso das doses de P, os dados encontrados no presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Rocha *et al* (2006) onde diferentes doses de P no solo não influenciaram a altura das plantas.

Em relação ao diâmetro do caule, não foram encontradas diferenças entre os tratamentos para a bracatinga, e isto provavelmente se deve ao fato de que as mudas ainda estavam muito jovens e não foi possível encontrar diferenças neste tempo.

A adição de P na bracatinga, para qualquer um dos fungos inoculados, gerou um aumento na biomassa. O P é um dos maiores componentes dos ácidos nucleicos, das membranas lipídicas e dos intermediários fosfatados no

metabolismo como o ATP, o que faz este nutriente essencial na divisão celular e no crescimento (PRATT *et al*, 2009). Os resultados do teor de P mostraram que as duas plantas foram dependentes tanto para a adição de P quanto para o fungo inoculado. Em ambas plantas os maiores teores foram encontrados com diferentes FMA em relação a dose de fosforo, evidenciando que os fungos tem uma resposta diferente à concentração de P no solo. Os fungos que geraram maior teor de P nas plantas foram aqueles que apresentam um micélio mais fino como os da família Aculsporacea e Glomeraceae (HART & KLIRONOMUS, 2002). Esse resultado indica que em ambientes degradados essa característica promoveria uma melhor disponibilização de P por parte dos FMA para a planta.

No acúmulo de P não houve diferenças entre os fatores para o cedro, o que pode ser devido ao fato de que não foi avaliado o teor e acúmulo de P da raiz. No caso da bracatinga somente houve diferenças nos fungos, *C. etunicatum* foi o fungo mais eficiente na absorção de P. Estes dados são similares aos encontrados por Kahneh *et al* (2006) onde *C. etunicatum* gerou um acúmulo maior de P em *Camellia sinensis* em diferentes doses de P no solo comparado com isolados de *R. intraradices* e *Glomus versiforme*. Neste estudo apenas foi avaliado o teor e acúmulo de P da parte aérea da planta pelo que as baixas quantidades de P nos tratamentos sem inoculação poderiam ser justificadas por um maior acúmulo na raiz.

As diferentes espécies de FMA exibem diferenças na velocidade e extensão de colonização intraradical, sendo que os fungos pertencentes às famílias Glomeraceae e Claroideoglomeraceae se destacam por serem colonizadores rápidos e profusos (Hart & Reader 2002). Esse fato pode auxiliar na explicação de porque as espécies *R. clarus* e *C. etunicatum* apresentaram as maiores porcentagens de colonização. Por outro lado, as espécies do gênero *Gigaspora* são típicos estrategistas R, caracterizados por apresentar uma velocidade menor de colonização, acompanhada por um maior crescimento do

micélio extra-radicular e uma menor produção de esporos, que por sua vez apresentam maior tamanho (Hart & Reader, 2002). Para o caso de *G. albida*, contrário ao esperado, apresentou uma alta porcentagem de colonização, cabe ressaltar que, embora não é possível a identificação de espécies de FMA mediante avaliação de hifas ou arbúsculos (estruturas encontradas na avaliação de colonização), observou-se que a maioria das raízes desse tratamento, estavam colonizadas por esporos intraradulares que não tinham as características típicas da família Gigasporaceae.

5.5 CONCLUSÕES

- A inoculação com isolados seleccionados de FMA no cedro e na bracatinga pouco influenciou o crescimento das plantas e a colonização micorrízica em solo de áreas de mineração não esterelizado, evidenciando que os FMA autóctones são eficientes e adaptados às condições desse solo.
- Fungos micorrízicos autóctones das áreas de mineração de carvão promovem elevada colonização micorrizica nas mudas em substrato com alto fornecimento de P.
- A adição de P no solo aumentou a biomassa da bracatinga e o teor de P na planta, mas não houve diferenças entre as doses de 50 e 200 mg kg⁻¹, enquanto que no cedro não se verificou efeito da adubação fosfatada sobre o crescimento da planta.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.F.; RAYMUNDO-JÚNIOR, O. Crescimento de mudas de *Anadenanthera falcata*, em casa-de-vegetação, inoculadas com rizóbio e micorrizas. **Holos Environment**, v. 6, n. 1, p. 22-30, 2006.

AROCA, R.; RUIZ-LOZANO, J.; ZAMARRE, A.; PAZ, J.; GARCIA-MINA, J.; POZO, J. Arbuscular mycorrhizal symbiosis influences strigolactone production under salinity and alleviates salt stress in lettuce plants. **Plant Physiology**. 170, 47-55. 2013.

BARTH, R. C. Avaliação da recuperação de áreas mineradas no Brasil. Viçosa: UFV, 1989.

BASLAM, M.; GERMENDIA, I.; GOICOECHEA, N. The arbuscular mycorrhizal symbiosis can overcome reductions in yield and nutritional quality in greenhouse-lettuces cultivated at inappropriate growing seasons. **Scientia Horticulture**. v.164. 2013

BELLOLI, M.; QUADROS, J.; GUIDI, A. A história do carvão de Santa Catarina. Criciúma: Imprensa Oficial do Estado de Santa Catarina, 2002. 300 p. Disponível em: <<http://www.siesesc.com.br>>. Acesso em 20 mai. 2014.

BEVER, J. D.; RICHARDSON, S. C.; LAWRENCE, B. M.; HOLMES, J.; WATSON, M. Preferential allocation to beneficial symbiont with spatial structure maintains mycorrhizal mutualism. **Ecology Letters**. v.12, 13-21. 2009

BI, Y.-L.; WU, F.-Y. & WU, Y.-K. Application of arbuscular mycorrhizal in restoration of areas affected by coal mining in China. **Acta Ecologica Silica**, v. 2073, 2005.

BENCHERIF, K.; BOUTEKRABT, A.; FONTAINE, J.; LARUELLE, F.; DALPÈ, Y.; LOUNÈS-HADJ, A. Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and

microflora biomass associated with *Tamarix articulata* Vahlh rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas. **Science of the Total Environment**. 533, 488-494. 2015.

BOATENG, A.A. Characterization and termal conversion of charcoal derived bed fast pyrolysis oil production of switchgrass, **Industrial Engineering and Research**, v. 46, 8857–8862, 2007.

BOURKE, J.; MANLEY-HARRIS, M.; FUSHIMI, C.; DOWAKI, K.; NUNOURA,T.;ANTAL, M.J. “Do all carbonized charcoals have the same chemical structure? 2. A model of the chemical structure of carbonized charcoal”, **Industrial Engineering and Chemical Research**, v.46, 5954-5967, 2007.

BRADSHAW, A.D. Restoration: An acid test for ecology. In: Jordan III WR, ME Gilpin &JD Aber, eds. Restoration Ecology: A synthetic approach to ecological research.Cambridge: Cambridge Press University, p.23-30, 1987.

BRASIL. Critérios para recuperação ou reabilitação de áreas degradadas pela mineração de carvão (Revisão 06). Ação Civil Pública nº 93.8000533-4 (Processo de Cumprimento de Sentença nº 2000.72.04.002543-9). Ministério Público Federal, Procuradoria da República em Santa Catarina, 2013. 19p.

BRASIL. Decreto nº 85206, de 25 de setembro de 1980. Diário Oficial da União, 26 de setembro de 1980, p.19236. Disponível em < <http://www.lexml.gov.br>>. Acesso em 14 mai. 2014.

BRASIL. Ministério. CONAMA. Resolução do CONAMA nº. 004, de 4 de maio de 1994. Define vegetação primária e secundária nos estágios inicial, médio e avançado de regeneração da Mata Atlântica, a fim de orientar os procedimentos de licenciamento de atividades florestais em

Santa Catarina. Coleção de leis [do] Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiano1>>. Acesso em: 13 de mai. 2014.

BROWN, S. & LUGO, A.E. Rehabilitation of tropical lands: a key sustaining development. **Restoration Ecology**, v.2, 97-111, 1994.

BRUNDRETT, M. Mycorrhizas in natural ecosystems. **Advances in Ecological Research**, v.21, 171-313, 1991.

BUSS W, MASEK O. Mobile organic compounds in biochar e A potential source of contamination e Phytotoxic effects on cress seed (*Lepidium sativum*) germination. **Journal of Environmental Management**. 111-119. 2014

CARDOSO, E. J. B. N. Eficiência de fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em soja, com *Rhizobium japonicum* e fosfato de rocha, em função do tipo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.10, 17-23, 1986.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; SOARES, A.L.L. Carbono orgânico, nitrogênio total, biomassa e atividade microbiana do solo em duas cronossequencias de reabilitação após a mineração de bauxite. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, 621-632, 2008.

CERNUSAK, L. A.; WINTER, K.; TURNER, B.L. Leaf nitrogen to phosphorus ratios of tropical trees: experimental assessment of physiological and environmental controls. **New Phytology**. v.185, n.3, 770–779. 2010.

CLARK, R.; Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization and host plant growth and mineral acquisition at low pH. **Plant soil**. v192. 15-22. 1997.

COSTA, T.A.; SCHUNK, E.; PINTRO, J.C. & COSTA, S.M.G. Influencia da inoculacao de fungos micorrizicos arbusculares da acidez do solo e de fontes de fosforo no crescimento do milho. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.24, p.1583-1590, 2002.

COLOMBO, R.; MARTINEZ, A.; DI PARDO, A.; FERNANDEZ, L.; VAN BAREN, C.; DI LEO, P.; GPDEAS, A. Differential effects os two strains of *Rhizophagus intraradices* on dry biomass and essential oil yield and composition in *Calamintha nepeta*. **Revista Argentina de Microbiologia**. v.45, n.2. 2013.

CPRM – Serviço Geológico do Brasil – Ministério de Minas e Energia. Disponível em <<http://www.cprm.gov.br>> Acessado em Maio 8 2015

DAS, O.; SARMAH, A. The love-hate relationship of pyrolysis biochar and water: A perspective. **Science of the Total Environment**. 512. 682-685. 2015.

DELGADILLO, L.A.E; GONZÁLEZ, R.C.A; PRIETO, G.F.; VILLAGÓMEZ, I.J.R.; ACEVEDO, S.O. Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. **Tropical and Subtropical Agroecosystems** v.14, 597- 612, 2011.

DIAS, L.E.; PENEDO, A.P.; MELO, R.F. Revegetação de substratos sulfetados remanescentes de mineração: avanços e limitações. VI Simpósio Nacional e Congresso Latinoamericano sobre Recuperação de Áreas Degradadas - A fauna em foco. 2005 (Palestra).

DNPM - Departamento Nacional de Produção Mineral. Disponível em <<http://www.dnpm.gov.co>> Acessado em Maio 1 2016

DOMENE, X.; MATTANA, S.; HANLEY, K.; ENDERS, A.; LEHMANN, J. Medium-term effects of corn biochar addition to soil biota activities and functions in a temperate soil

cropped to corn. **Soil Biology Biochemistry**. v. 72, 152-162. 2014.

DONNELLY, P. K., FLETCHER, J. S. Potential use of mycorrhizal fungi as bioremediation agents. In: Anderson, T. A., Coats, J. R. (Eds.), *Bioremediation Through Rhizosphere Technology*, American Chemical Society Symposium Series 563. ACS Chicago, Illinois, pp. 93-99, 1994.

DOS ANJOS, E.; CAVALCANTE, U.; DOS SANTOS, V.; MAIA, E.; Produção de mudas de maracujazeiro-doce micorrizadas em solo desinfestado e adubado com fósforo. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. v40, n.4, 345-351. 2005.

ELZOBAIR, K.; STROMBERGER, M.; IPPOLITO, J.; LENTZ, R. Contrasting effects of biochar versus manure on soil microbial communities and enzyme activities in an Aridisol. **Chemosphere**. v. 142, 145-152. 2016.

FARIA, S.M.; FRANCO, A.A.; CAMPELLO, E.F.C.; SILVA, E.M.R. Recuperação de solos degradados com leguminosas noduladas e micorrizadas. *Seropédica: Embrapa Agrobiologia*, 1998. 23p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 77).

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria. Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico. EMBRAPA MEIO AMBIENTE. 1ª ed. 198 p. 2000.

FATMA. Fundação do meio ambiente. Avaliação da qualidade ambiental da região carbonífera catarinense. Florianópolis, 1983.

FERRARI, A.E; WALL, L.G. Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. **Revista Facultad Agronomía**. v.105, n.2, 63-87, 2004.

FERREIRA, P.; CERETTA, C.; SORIANI, H.; TIECHERA, T.; SOARES, C.R.F.S.; ROSSATO, L.; NICOLOSO, F.; BRUNETTO, G.; PARANHOS, J.; CORNEJO, P. *Rhizophagus clarus* and phosphate alter the physiological responses of *Crotalaria juncea* cultivated in soil with a high Cu level. **Applied Soil Ecology**. v.91, 37-47. 2015

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. de. The Contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v 29, n.5-6, p. 897-903, 1997.

FRANCO, A.A.; DIAS, L.E.; FARIA, S.M.; CAMPELLO, E.F.C.; SILVA, E.M.R. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico. In: ESSEVES, F.A. ed. Estrutura, Funcionamento e Manejo de Ecossistemas Brasileiros, Rio de Janeiro, Instituto de Biologia-UFRJ, p.459-467, 1995.

FRANCO, A. A.; CAMPOS NETO, D.; CUNHA, C. O., CAMPELHO E. F. C.; MONTEIRO, E. M. S.; SANTOS, C. J. F.; FONTES, A. M.; FARIA, S.M. Revegetação de solos degradados. In: Workshop sobre recuperação de áreas degradadas. Itaguaí. UFRRJ/Departamento de Ciências Ambientais 2: 133-157.1991.

GASKIN, J.; STEINER, C.; HARRIS, K.; DAS, C.; BIBENS, B.; Effects of low-temperature pyrolysis conditions on biochar for agricultural use. **ASABE**. v.51. 2061-2069. 2008.

GASSEN, D.N.; GASSEN, F.R. Plantio direto. Passo Fundo, Aldeia Sul, 1996. 207p.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v.46, n.2, p. 235–244. 1963.

GERDEMANN, J. W . Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: The development and function of root. Academic Press, New York. 1975. p. 575-59.

GIANINAZZI-PEARSON, V.; TOLLOT, M.; SEDDAS, P. M. Dissection of genetic cell programmes driving early arbuscular mycorrhiza interactions. In: Mycorrhizas Functional Processes and Ecological Impact. Springer, 2009. p. 33–45

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, v.84, n.3, p.489-500,1980.

GOLLOTTE, A.; VANTUINEN, D.; ATKINSON, D. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising roots of the grass species *Agrostis capilaris* and *Lolium perenne* in a field experiment. **Mycorrhiza** v.14, 111–117. 2004

GOLTAPPEH, E. M. et al. Mycorrhizal Fungi: What We Know and What Should We Know? In: VARMA, P. D. A. (Ed.). *Mycorrhiza*. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2008. p. 3–27

GOMES, A. J. P.; CRUZ, P. R.; BORGES, L. P. Recursos minerais energéticos: carvão e urânio. p. 577-601. In: BIZZI, L. A.; SCHOBENHAUS, C.; VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, J. H. *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil: textos, mapas e SIG*. 2003.

GONÇALVES, F.C. Efeito de plantas de cobertura sobre os atributos físicos de um solo construído na área de mineração de carvão de Candiota-RS após três anos. Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 2008. 91p.

GOULARTI FILHO, A. Memória e cultura do carvão em Santa Catarina. Florianópolis: Cidade Futura, 2009.

GRAY, D.; DIGHTON, J. Mineralization of forest litter nutrients by heat and combustion. **Soil biology and Biochemistry**. v30. 1469-1477.2006.

GREEN, N.; GRAHAM, J.; SCHENK, N. The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. **Mycologia**. v 68. 929-934. 1976.

GRMAN, E. Plant species differ in their ability to reduce allocation to non-beneficial arbuscular mycorrhizal fungi. **Ecology**. v.33, n.4. 2012,

GUNDALE M, DELUCA T. Temperature and source material influence ecological attributes of ponderosa pine and Douglas-fir charcoal. **Forest Ecology and Management**, 86–93. 2006.

HAMMER, E.; BALOGH-BRUNSTAD, Z.; JAKOBSEN, I.; OLSON, P.; STIPP, S.; RILLIG, M. A mycorrhizal fungus grows on biochar and captures phosphorus for its surface. **Soil Biology & Biochemistry**. v.77. 252-260. 2014.

HAMMER, E.; FORSTREUTER, M.; RILLIG, C.; KOHLER, J. Biochar increases arbuscular mycorrhizal plant growth enhancement and ameliorates salinity stress. **Applied Soil Ecology**. v. 96, 114-121. 2015.

HART M., READER R. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytology**. 153, 335–344. 2002

HART, M.; KLIRONOMOS, J. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. **Mycorrhiza**, v.12, n.4, 181–184, 2002

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: California Agriculture Exp. Station, 1950. 32p.

IANSON, D.; ALLEN, M.; The effects of soil texture on extraction of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores from arid soils. **Mycologia**. 78, 164-168. 1986.

JANOS, D. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. **Mycorrhiza**. v.17, n.2. 75-91. 2007.

JESUS, E. C.; SCHIAVO, J. A.; FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para a nodulação de espécies arbóreas tropicais. **Revista Árvore**, v.29, n.4, 545-552, 2005.

JICA. Japan International Cooperation Agency. Interim report for the feasibility study on recuperation of mined out areas in south region of Santa Catarina in the Federative Republic Brazil. Criciúma: Fundação do Meio Ambiente (FATMA), 1997. 248p.

JOSEPH, S.D.; 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.; SMEMIK, R.J.; AMONETTE, J.E. An investigation into the reactions of biochar in soil. **Australian Journal of Soil Research**, v.48, 501–515, 2010.

KAHNEH, E.; RAMEZANPOUR, H.; RAMEZANPOUR, M.; HAGHPARAST, M.; SHIRINFEKR, A. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphorus Supplement on Leaf P, Zn, Cu and Fe Concentrations of Tea Seedlings. **Caspian J. Environmental Science**, v.4, n.1, 53-58. 2006.

KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; SOARES, C.R.F.S.; SILVA, S. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: VIDAL-TORRADO, P.; ALLEONI, L.R.F.; COOPER, M.; SILVA, A.P.; CARDOSO, E.J. (Ed.). *Tópicos em Ciência do Solo*. Viçosa: UFV; Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. p.85-144.

LAMB, D.; ERSKINE, P.D.; PARROTTA, J.A. Restoration of degraded tropical forest landscapes. **Science**, v.310, 1628-1632, 2005.

LEHMANN, L.; JOSEPH, S. Biocarvão for environmental management: science and technology. Earthscan, London, UK, 2009, 416 p.

LECROY C, MASIELLO C, RUDGERS J, HOCKADAY W, SILBERG J. Nitrogen, biocarvão, and mycorrhizae: Alteration of the symbiosis and oxidation of the char surface. **Soil Biology & Biochemistry**, 248-254. 2014.

LOPES, R. P.; SANTO, E. L.; GALATO, S. Mineração de carvão em Santa Catarina: Geologia, Geoquímica e impactos ambientais. In: MILIOLI, G.; SANTOS, R.; CITADINI-ZANETTE. Mineração de carvão, meio ambiente e desenvolvimento sustentável no Sul de Santa Catarina: uma abordagem interdisciplinar. Juruá. Curitiba, Brasil. 2009, 316p.

LIU, J.; HUANG, W.; ZHOU G.; ZHANG, D.; LIU, S.; LI, Y. Nitrogen to phosphorus ratios of tree species to elevated carbon dioxide and nitrogen subtropicals forest. **Global Change Biology**. v.19. 208-216. 2013.

MACEDO, M. O. et al. Changes in soil C and N stocks and nutrient dynamics 13 years after recovery of degraded land using leguminous nitrogen-fixing trees. **Forest Ecology and Management**. v.255, n.5-6, p. 1516-1524, 2008

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: POTAFÓS, 1989. 201 p.

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

MALCOVA, R.; VOSATKA, M.; ALBRECHTOVA, J. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and stimulated acid rain on the growth and coexistence of the grasses *Calamagrostis villosa* and *Deshampsia flexuosa*. **Plant and soil**. v. 207, 45-57. 1998.

MASCHIO, L.M.A.; GAIAD, S.; CAMARGO, C.M.S.; ANDRADE, F.M.; BATTI, A.M.B. Estabelecimento de espécies florestais em substrato degradado. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v.35, 39-48, 1997.

MATSCHULLAT, J.. Arsenic in the geosphere: a review. **The Science of Total Environment**, v.249, 297–312. 2000.

MATSUMOTO, L.; MARTINES, A.; AVANZI, M.; ALBINO, U.; BRASIL C.,; SARIDAKIS, D.; RAMPAZO, L; ZANGARO, W.; ANDRADE, G. Interactions among functional groups in the cycling of, carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. **Applied Soil Ecology**. v.28. 57-65. 2005

MEHARG, A, A.; CAIRNEY, J. W. G.; Co-evolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal-contaminated environments. **Advances in Ecological Research**, v.30, 69-112. 2000

MELLONI, R.; NÓBREGA, R.S.A.; MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas endofíticas em solos de mineração de bauxita, em reabilitação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.85-93, 2004.

MIA, S.; VAN GROENIGEN, J.; VAN DE VOORDE, T.; ORAM, N.; BEZEMER, T.; MOMMER, L.; JEFERRY, S. Biochar applications rate affects biological nitrogen fixation in red clover conditional on potassium availability.

Agriculture, **Ecosystems and Environment**. v191. p 83-91. 2014

MORALES, F. F. O GOULART FILHO, A.; carvão catarinense e o planejamento estatal. Ensaios sobre a economia sul-catarinense . Criciúma: Unesc, 2004

MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e Bioquímica do Solo. 2a edição atualizada e ampliada. Lavras, Editora UFLA, 2006. 729p.

MOURA, G.G.D.; ARMAS; R.D.; MEYER, E.; GIACHINI, A.; ROSSI, M.; SOARES, C.R.F.S. Rhizobia isolated from coal mining areas in the nodulation and growth of leguminous trees. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v40. 2016.

MURRAY, J. D.; KARAS, B. J.; SATO, S.; TABATA, S.; AMYOT, L.; SZCZYGLOWSKI, K. A cytokinin perception mutant colonized by *Rhizobium* in the absence of nodule organogenesis. **Science**. v.315, 101-104. 2007

NAGY, R.; DRISSNER, D.; AMRHEIN, N.; JAKOBSEN, I.; BUCHER, M. Mycorrhizal phosphate uptake pathway in tomato is phosphorus-repressible and transcriptionally regulated. **New Phytologist**. v.181. 950-959. 2008.

NASCIMENTO, C. W. A.; BIONDI, C. M. Fitorremediação de solos contaminados por metais pesados. In: FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; STAMFORD, N. P.; SANTOS, C. E. R. S. (ORGS.). Microrganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura. Guaíba: Agrolivros, 2008. p. 463-486.

NOGUEIRA, M.A.; SOARES, C.R.F.S. Micorrizas arbusculares e elementos-traço. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. Micorrizas: 30 anos de Pesquisa no Brasil. Lavras, Editora UFLA, 2010.

OLIVEIRA, M. L. S.; SILVA, L. F. O. Historiografia da Região Mineira de Santa Catarina: Almejando Futuras Perspectivas, Salvador - Madehuman I, 2006

OLIVEIRA, J.; ALIXANDRE, T.; Parâmetros biométricos de mudas de sabiá micorrizadas sob níveis de fósforo em *Latossolo amarelo*. **Pesquisa Florestal Brasileira**. v.33, n.74. 2013.

OLDROYD G. E. D.; ENGSTROM E. M.; LONG S. Ethylene inhibits the nod factor signal transduction pathway of *Medicago truncatula*. **Plant Cell**. v.13 1835-1849. 2001.

PARDOS, J. Respuesta de las plantas al anegamiento del suelo. **Invest Agrar: Sist Recur For**. 101-107. 2004.

PRATT J, BOISSON A-M, GOUT E, BLIGNY R, DOUCE R, AUBERT S. Phosphate (Pi) starvation effect on the cytosolic Pi concentration and Pi exchanges across the tonoplast in plant cells: an in vivo P-nuclear magnetic resonance study using methylphosphonate as a Pi analog. **Plant Physiology**. v.151. 1646–1657. 2007.

PEARSON, J. STEWART, G. The deposition of atmospheric ammonia and its effects on plants. **New Phytologist**. v.125, n.2. 283-305. 1993.

PEÑA-VANEGAS, C.; CARDONA, C.; ARGUELLES, J.; ARCOS, A. Micorrizas arbusculares del sur de la amazonia colombiana y su relacion con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. **Acta Amazonica**. v.37, n.3. 327-337. 2007.

PASCUAL, J.O. Cuatro décadas en la simbiosis Rhizobium-leguminosa. Discurso leído en el acto de su recepción como académico numerario. Academia de Ciencias Matemáticas, Físico-Químicas y Naturales de Granada, 2003.

PAIVA, H. N.; CARVALHO, J. G.; SIQUEIRA, J. O. Índice de translocação de nutrientes em mudas de Cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e Ipê-Roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) submetidas a doses crescentes de cádmio, níquel e chumbo. **Revista Árvore**, 2002. p.467-473.

PAULA, M.A. & SIQUEIRA, J.O. Umidade do solo e a simbiose *Glycine max* (L.) Merrill – *Bradyrhizobium* – *Glomus macrocarpum*. In: II Reunião Brasileira sobre Micorrizas (REBRAM). São Paulo: Esalq-USP, 1987. p.24.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the British Mycological Society**, v.55, n.1, p.158-161, 1970.

POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, J. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.30, n.3, 413-424. 2006

PRSC. PRIMEIRO RELATÓRIO DE MONITORAMENTO DOS INDICADORES AMBIENTAIS DA REGIÃO CARBONÍFERA SC, 2007. Disponível em <<http://www.prsc.mpf.gov.br>>. Acesso em: 10 Novembro 2015

PYWELL, R.; BULLOCK, J.; ROY, D.; WARM, L.; WALKER, K.; ROTHERY, P. Plants traits as predictors of performance in ecological restoration. **Journal of Applied Ecology**, v.40, p.65-77, 2003.

REGENSBURGER, B. Recuperação de áreas degradadas pela mineração de argila através da regularização topográfica, da adição de insumos e serrapilheira, e de atratores da fauna. Florianópolis, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. 97p.

REQUENA, N.; PEREZ-SOLIS, E.; AZCÓN-AGUILAR, C.; JEFFRIES, P.; BAREA, J.M. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. **Applied Environmental Microbiology**, v.67, n.2, p.495-498, 2001.

ROCHA, F. S.; SAGGIN-JUNIOR, O.; SILVA, E.; LIMA, W. Dependência e resposta de midas de cedro a fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.1. p.77-84, 2006.

ROCHA-NICOLEITE, E.; CAMPOS, M.; CITADINI-ZANETTE, V.; SANTOS, R.; MARTINS, R.; SOARES, C.R.F.S. Mata Ciliar: implicações técnicas sobre a restauração após a mineração de carvão. SATC. Criciúma, Brasil. 2013. 80p.

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

RUBIO, J. Aspectos ambientais no setor minero-metalúrgico. Em: Capítulo 13 do livro “Tratamento de Minérios”; A.B. da Luz, M.V. Possa e S. L. de Almeida (Eds), CETEMCNPq- MCT, p.537-570, 1998.

SANCHEZ, J.C.D.; FORMOSO, M.L.L. Utilização do carvão e meio ambiente. Boletim Técnico. Porto Alegre, n.20, 1990. 34p.

SANCHEZ P.A., PALM C.A., BUOL S.W. Fertility capability soil classification: a tool to help assess soil quality in the tropics, **Geoderma**, 114, 157–185. 2003.

SANTOS, J.G.D.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Eficiência de fungos micorrízicos arbusculares isolados de solos de áreas de mineração de bauxita no crescimento

inicial de espécies nativas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, p. 141-150, 2008.

SAKURAGUI M, STEFANO M, CALAZANS L. Meliaceae. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

SATURNO, D.F.; NOVAES, A.G.; LIMA FILHO, A.; DORIGO, O.F.; ANDRADE, D.S. Ocorrência de microrganismos simbióticos fixadores de nitrogênio em solos cultivados e sob floresta. Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil. p.1-4, 2009.

SCHREINER, R. P. Effects of native and nonnative arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of 'Pinot noir' (*Vitis vinifera* L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. **Applied Soil Ecology**. 205-215. 2007.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. **Mycological Research** v.102 n.12, 1413-1421. 2001

SHAMSUDDIN, A.H.; WILLIAMS, P.T. Devolatilisation studies of oil-palm solid wastes by thermo-gravimetric analysis, **Journal of the Institute of Energy**, 65:31–34, 1992.

SIECESC. Sindicato da Indústria de Extração de Carvão do Estado de Santa Catarina. Disponível em: <<http://www.siecesc.com.br>>, Acesso em 9 Novembro de 2016

SILVA JUNIOR, M.C.; SACRANO, F.R. & SOUZA CARDEL, F. Regeneration of an Atlantic Forest formation in the undertory of a *Eucllyptus grandis* plantation in southeastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v.11, 147-152, 1995.

SILVEIRA, A.N.; SILVA, R.D.R.; RUBIO, J. Técnicas para tratamento e aproveitamento de águas ácidas residuais da mineração de carvão. III Workshop Gestão e Reuso de Água na Indústria. Florianópolis, 2007. p.1-6.

SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S.; SILVA, C.A. Matéria orgânica em solos de áreas degradadas. In: SANTOS, G.A.; SILVA, L.S.S.; CANELLAS, L.P.; CAMARGO, F.A.O.(Org.). Fundamentos da matéria orgânica do solo - Ecossistemas tropicais e sub-tropicais. 2 ed. Porto Alegre: Metrópole Editora Ltda, 2008, v. 1, p. 495-524.

SIQUEIRA J. CERETTA C, SILVA L, REICHERT J. Micorrizas e degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. Tópicos em ciência do solo. Viçosa: SBCS, 2007. p. 219-306.

SOARES, P.S.M.; SANTOS, M.D.C.; POSSA, M.V. Carvão Brasileiro: Tecnologia e Meio Ambiente. Rio de Janeiro: CETEM, 2008. 289p.

SOARES, T.; MOREIRA, F.M.S. Simbioses leguminosas, fungos micorrízicos e bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas. In: SIQUEIRA, J.O.; SOUZA, F.A.; CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M. Micorrizas: 30 anos de Pesquisa no Brasil. Lavras, Editora UFLA, 2010.

SOUZA, F.A. & SILVA, E.M.R. Micorrizas arbusculares na revegetação de áreas degradadas. In: Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas (J.O. Siqueira, ed.). UFLA/DCS e DCF, Lavras, 1996. p.255-290.

SOUZA, F.; MOREIRA, A.; COSTA, A.; NERY, C. Delimitação das áreas de preservação permanente no município de Monte Azul/MG. REMOA . 14: 154-165. 2015

SPOKAS, K. A.; CANTRELL, K. B.; NOVAK, J. M.; ARCHER, D. IPPOLITO, J.; COLLINS, H.; BOATENG, A.

Biochar: a synthesis of the agronomic impact beyond carbon sequestration. **Journal Environmental Quality**. v. 41. 973-989. 2012.

STAHL, P. D., PERRYMAN, B. L., SHARMASARKAR, S., MUNN, L. C. Topsoil stockpiling versus exposure to traffic: A case study on In situ Uranium wellfields. **Restoration Ecology**, v.10, n.1, 129-137, 2002.

STEINBEISS, S.; GLEIXNER, G.; ANTONIETTI M. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. **Soil biology & biochemistry**. 1-10. 2009.

STEINER, C.; TEIXEIRA, W.G., LEHMANN, J.; NEHLS, T.; MACÊDO, J.L.V.; BLUM, W.L.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 Soil**, 2007.

STOFFEL, S.C.G.; DUTRA DE ARMAS, R.; GIACHINI A.J.; ROSSI, M.; GONZALEZ, D.; MEYER, E.; NICOLEITE, C; ROCHA-NICOLEITE, E.; SOARES, C.R.F.S. Micorrizas arbusculares no crescimento de leguminosas arbóreas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. **CERNE**. 2016 . 22:2

STURMER, S.L. & SIQUEIRA, J.O. Diversidade de Fungos Micorrízicos Arbusculares em Ecossistemas Brasileiros. In: FÁTIMA M. S. MOREIRA; JOSÉ OSWALDO SIQUEIRA & BRUSSARD, L. Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 2008. p.537-584

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H. & VOLKWEISS, S.J. Análise de solo, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 175. 1995

VAN TUINEN D., JACQUOT E., ZHAO B., GOLLOTTE A. & GIANINAZZI-PEARSON V. (1998): Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25 rDNA-targeted nested PCR. **Molecular Ecology**. 7: 879–887.

VAN ZEIJL, A.; OP DEN CAMP R. H. M.; DEINUM E. E.; CHARNIKHOVA T.; FRANSSEN H.; OP DEN CAMP H. J. M.; BOUWMEESTER, H.; KOHLEN, W.; BISSELING, T.; GEURT, R. (2015). *Rhizobium* lipo-chitooligosaccharide signaling triggers accumulation of cytokinin in *Medicago truncatula* roots. **Molecular Plant**. v.8, 1213-1226. 2015

VITTORETTI, A. Historia do Tubarão: das origens ao século XX. Incopel. 1992. p 426.

WARNOCK, D.; LEHMANN, J.; KUYPER, T.; RILLIG, M.; Mycorrhizal responses to biocarvão in soil e concepts and mechanisms. **Plant and Soil**. 9-20. 2007

WILKINSON, S.R.; WELCH, R.M.; MAYLAND, M.F.; GRUNES, D.L. Magnesium in plants: uptake, distribution, function, and utilization by man and animals. p. 33-56. In: Sigel, H.; Sigel, A., eds. Metal ions in biological systems: compendium on magnesium and its role in biology, nutrition, and physiology. Marcel Dekker, New York, NY, USA. 1990.

WHITE, P.; BRADLEY, M. Calcium in plants. **Annals of Botany**. v.92. 487-511. 2003

WCI. World Coal Association. The coal resource: a comprehensive overview of coal. London: WCI, 2005. 44p. Disponível em: <<http://www.worldcoal.org>>, Acesso em 10 Setembro 2014.

ZANGARO, W.; ROSTIROLA, L.; DE SOUZA, P.; DE ALMEIDA, A.; LESCANO, L.; RONDINA, A.; NOGUEIRA,

M.; CARRENHO, R. Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil. **Mycorrhiza**. v.23, 221-233. 2013

ANEXOS

Anexo A: Resumo ANAVA Influência na inoculação de diferentes espécies de FMA e diferentes doses de biocarvão nas diferentes variáveis na bracinga

Variáveis	G.L.	Valor F	P \leq
pH			
FMA	4	4,123	0,01
Dose biocarvão	4	21,890	0,01
FMA+biocarvão	16	2,093	0,05
C.V.= 8,08			
Colonização Radicular			
FMA	4	145,896	0,01
Dose biocarvão	4	1,127	n.s.
FMA+biocarvão	16	1,726	n.s.
C.V.= 27,98			
Número de esporos			
FMA	4	15,095	0,01
Dose biocarvão	4	1,302	n.s.
FMA+biocarvão	16	2,468	0,01
C.V.= 88,93			
Altura			
FMA	4	0,968	n.s.

Dose biocarvão	4	10,797	0,01
FMA+biocarvão	16	1.985	0,05

C.V.= 17,70

Diametro

FMA	4	6,672	0,01
Dose biocarvão	4	10,963	0,01
FMA+biocarvão	16	1,612	n.s.

C.V.= 15,61

Matéria seca parte aérea

FMA	4	2,790	0,05
Dose biocarvão	4	0,673	n.s.
FMA+biocarvão	16	1,253	n.s.

C.V.= 29,62

Teor de P

FMA	4	7,896	0,01
Dose biocarvão	4	51,061	0,01
FMA+biocarvão	16	8,351	0,01

C.V.= 26,96

Acumulo de P

FMA	4	13,610	0,01
Dose biocarvão	4	31,060	0,01
FMA+biocarvão	16	6,010	0,01

C.V.= 34,29

Anexo B: Resumo ANAVA Influência na inoculação de diferentes espécies de FMA e diferentes doses de biocarvão nas diferentes variáveis no cedro

Colonização Radicular

FMA	4	540,248	0,01
Dose biocarvão	4	66,244	0,01
FMA+biocarvão	16	6,229	0,01
C.V.= 17,31			

Número de esporos

FMA	4	50,281	0,01
Dose biocarvão	4	3,263	0,05
FMA+biocarvão	16	1,354	n.s.
C.V.= 17,31			

Altura

FMA	4	2,535	0,05
Dose biocarvão	4	2,743	0,05
FMA+biocarvão	16	1,727	0,05
C.V.= 22,86			

Diametro

FMA	4	4,007	0,01
-----	---	-------	------

Dose biocarvão	4	10,997	0,01
FMA+biocarvão	16	1,094	0,05
C.V.= 25,45			
<hr/>			
Matéria seca parte aérea			
FMA	4	3,577	0,01
Dose biocarvão	4	15,495	0,01
FMA+biocarvão	16	2,766	0,01
C.V.= 42,03			
<hr/>			
Teor de P			
FMA	4	2,346	n.s.
Dose biocarvão	4	0,143	n.s.
FMA+biocarvão	16	1,294	n.s.
C.V.= 24,13			
<hr/>			
Acúmulo de P			
FMA	4	1,648	n.s.
Dose biocarvão	4	5,569	0,01
FMA+biocarvão	16	1,382	n.s.
C.V.= 46,11			
<hr/>			

Anexo 3: Resumo ANAVA Influência na inoculação de diferentes espécies de FMA e diferentes doses de P nas diferentes variáveis avaliadas na bracinga

Variáveis	G.L.	Valor F	P ≤
Colonização Radicular			
FMA	5	5,901	0,01
Dose P	2	0,360	n.s.
FMA+P	7	0,948	n.s.
C.V.= 17,96			
Altura			
FMA	5	3,160	0,01
Dose P	2	0,799	n.s.
FMA+P	7	0,886	n.s.
C.V.= 23,12			
Diametro			
FMA	5	1,765	n.s.
Dose P	2	0,400	n.s.
FMA+P	7	1,398	n.s.
C.V.= 46,58			
Matéria seca da parte aérea			
FMA	5	0,822	n.s.
Dose P	2	15,738	0,01

FMA+P	7	0,980	n.s.
C.V.= 17,31			
Teor de P			
FMA	5	17,363	0,01
Dose P	2	0,787	n.s.
FMA+P	7	2,671	0,01
C.V.= 29,52			
<hr/>			
Acúmulo de P			
FMA	5	18,164	0,01
Dose P	2	12,491	0,01
FMA+P	7	1,541	n.s.
C.V.= 32,89			
<hr/>			

Anexo 4: Resumo ANAVA Influência na inoculação de diferentes espécies de FMA e diferentes doses de P nas diferentes variáveis avaliadas no cedro

Variáveis	G.L.	Valor F	P \leq
Colonização Radicular			
FMA	5	1,099	n.s.
Dose P	2	1,703	n.s.
FMA+P	7	1,656	n.s.
C.V.= 18,98			
Altura			
FMA	5	0,728	n.s.
Dose P	2	2,397	n.s.
FMA+P	7	1,888	n.s.
C.V.= 21,26			
Diametro			
FMA	5	1,110	n.s.
Dose P	2	3,273	0.05
FMA+P	7	1,801	n.s.
C.V.= 46,58			
Matéria seca da parte aérea			
FMA	5	0,497	n.s.
Dose P	2	15,738	n.s.
FMA+P	7	0,980	n.s.

C.V.= 38,41

Teor de P

FMA	5	9,902	0,01
Dose P	2	0,435	n.s.
FMA+P	7	2,473	0,05

C.V.= 29,52

Acúmulo de P

FMA	5	1,731	n.s.
Dose P	2	2,174	n.s.
FMA+P	7	1,264	n.s.

C.V.= 39,76
