

Crescimento e absorção de fósforo em mudas de *Mimosa scabrella* inoculadas com isolados de *Rhizophagus clarus* em substrato contendo rejeito de mineração de carvão

Shantau Camargo Gomes Stoffel⁽¹⁾; Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares⁽²⁾

⁽¹⁾ Estudante de graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e-mail: shantau1@gmail.com

⁽²⁾ Professor do Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP), Centro de Ciências Biológicas (CCB/UFSC), Florianópolis, SC, Brasil. e-mail: crfsoares@gmail.com

Resumo: A extração de carvão mineral afeta os ecossistemas associados às áreas mineradas, havendo necessidade de recuperação ambiental. A revegetação com leguminosas arbóreas controla os processos erosivos do solo. Essas plantas formam simbioses radiculares com fungos micorrízicos arbusculares (FMA), os quais apresentam esporos multinucleados podendo gerar grande variabilidade genética entre isolados da mesma espécie. Além disso, fatores relacionados com as condições de multiplicação e armazenamento podem proporcionar alterações genéticas com consequente mudança na eficiência simbiótica dos FMA. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de isolados de *Rhizophagus clarus* no crescimento e na absorção de fósforo (P) da bracatinga (*Mimosa scabrella*) em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. Para isso, um ensaio em delineamento inteiramente casualizado foi conduzido em casa de vegetação testando um isolado de *R. clarus* proveniente de solos degradados pela mineração de carvão (UFSC 14) e outros três isolados de áreas não degradadas (RJN102A, Embrapa-A5 e UFLA-R.c.), além de um tratamento controle não inoculado. Isolados de *R. clarus* promoveram colonização micorrízica da bracatinga, com valor médio de 53 %, evidenciando a capacidade infectiva desse FMA para essa planta. Não houve comportamento diferenciado entre os isolados de *R. clarus* no crescimento e absorção de P pela bracatinga. Conclui-se que o isolado de *R. clarus* autóctone das áreas de mineração (UFSC 14) não difere de demais isolados provenientes de áreas, e isolados de diferentes procedências e condições de multiplicação e armazenamento não alteram a capacidade infectiva e a eficiência simbiótica para a bracatinga, podendo ser empregados na produção de mudas destinadas à revegetação de áreas impactadas pela mineração de carvão.

Palavras-chave: Fungo micorrízico arbuscular, recuperação ambiental, produção de mudas, revegetação.

Growth and uptake of phosphorus in *Mimosa scabrella* seedlings inoculated with *Rhizophagus clarus* isolates on substrate containing coal mining tailings

Abstract: Extraction of mineral coal affects the ecosystems associated to the mined areas, and there is a need for environmental recovery. Revegetation with leguminous trees controls soil erosive processes. These plants form root symbioses with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which present multinucleated spores that can generate great genetic variability among isolates of the same species. In addition, factors related to AMF multiplication and storage can provide genetic changes with consequent change in symbiotic efficiency. The objective of this work was to evaluate the effect of inoculation of *Rhizophagus clarus* isolates on the growth and uptake of P from bracinga (*Mimosa scabrella*) on a coal mining tailings substrate. An experiment was carried out in a completely randomized design containing *R. clarus* isolated from soil degraded by coal mining (UFSC 14), three isolates of AMF from non-degraded areas (RJN102A, Embrapa-A5 e UFLA-R.c.), in addition to a non-inoculated control treatment. It was verified that the different isolates of *R. clarus* promoted mycorrhizal colonization of bracinga, with average value of 53%, evidencing the high infectivity of this AMF for bracinga. It was evidenced that there was no differentiated behavior between *R. clarus* isolates on the growth and uptake of P by bracinga. In conclusion the isolate of *R. clarus* autochthonous to the mining areas (UFSC 14) did not differ from other isolates coming from other sources. In addition, conditions of multiplication and storage do not alter the infective capacity and symbiotic efficiency for bracinga. These isolates can be used in the production of seedlings destined to the revegetation of coal mining degraded areas.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungi, environmental recovery, seedling production, revegetation.

Introdução

O carvão mineral é formado durante milhões de anos pela decomposição da matéria orgânica (como restos de plantas e animais), sob o efeito de temperatura e pressão. A extração do carvão mineral representa importante atividade do setor termoeletrico mundial e brasileiro, na indústria cimenteira, indústria petroquímica e na

de papel e celulose, gerando muitos benefícios econômicos e empregos diretos e indiretos (ANEEL, 2008). O carvão mineral é a principal fonte de energia para aquecer fornos das siderúrgicas onde o aço é fabricado, e na produção de eletricidade em usinas termoelétricas. Países como Estados Unidos, Rússia, China, Austrália e Índia contribuem com 75 % das reservas mundiais, enquanto o Brasil contribui com 0,1 %, apenas. Destes, o Rio Grande do Sul possui 89,25%, Santa Catarina 10,41%, e o Paraná 0,32 % das reservas brasileiras (ANEEL, 2008; BRASIL, 2014).

O processo de extração e beneficiamento do carvão mineral afeta física, química e biologicamente os ecossistemas associados às áreas mineradas, causando impactos socioambientais. Além disso, a queima do carvão ocasiona a emissão de gases do efeito estufa e favorece a formação da chuva ácida, com sérias consequências para o aquecimento global e qualidade dos recursos hídricos (ANEEL, 2008, AGUIAR e BALESTIERI, 2007, SILVA et al., 2010).

Um dos principais problemas da atividade de mineração é a formação das chamadas áreas de lavra, um ambiente extremamente degradado, onde animais, plantas, insetos e microrganismos encontram dificuldade para se estabelecer. A lavra do carvão mineral pode ser gerada de duas maneiras: em galerias subterrâneas ou extração a céu aberto, sendo esta última a mais realizada na região carbonífera de Santa Catarina nas décadas passadas. O processo de extração de carvão mineral à céu aberto promoveu enorme passivo ambiental em que ocorria intensa remoção das camadas superficiais do solo com conseqüente inversão das camadas mais férteis com o material resultante da escavação (estéril), formando pilhas de até 20 m de altura. Essa inversão põe em risco o solo, a biota e microbiota, além dos recursos hídricos, havendo a necessidade de forte intervenção antrópica para a recuperação dessas áreas (ROCHA-NICOLEITE et al., 2013).

Dos problemas gerados pela formação das áreas de lavra, um dos maiores é a Drenagem Ácida das Minas (DAM). A oxidação de minerais de sulfeto, principalmente pirita (FeS_2), forma uma solução extremamente ácida ($\text{pH} < 2,0$), que possui grande capacidade de lixiviar metais como Al, Fe e Mn presentes em altas concentrações no rejeito e comprometendo a qualidade do solo e dos recursos hídricos adjacentes (CAMPANER e LUIZ-SILVA, 2008).

Em 1993, foi instaurada uma Ação Civil Pública (ACP nº 93.8000533-4) pelo Ministério Público Federal visando controlar os passivos ambientais gerados pela atividade de mineração de carvão. Nas áreas consideradas APPs foi preconizado o processo de recuperação. A revegetação com espécies nativas é uma das etapas do processo de recuperação, 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 (FRANCO et al., 1992). A cobertura vegetal morta depositada pela vegetação protege o solo da erosão, reduzindo o impacto das chuvas e retendo umidade. Somado às propriedades físicas, a decomposição lenta desse material vegetal depositado, libera matéria orgânica no solo fornecendo nutrientes para plantas e microrganismos (NOGUEIRA et al., 2012).

Entre as diversas espécies florestais que podem ser utilizadas em programas de revegetação de solos degradados pela mineração de carvão, destacam-se as leguminosas arbóreas de rápido crescimento (FARIA et al., 1998). Essas espécies podem ser utilizadas próximas aos escoadouros naturais, nas áreas de cava preenchidas com estéril, e também são adequadas para a formação de barreiras naturais, minimizando os processos erosivos das áreas de mineração. O uso de leguminosas também é recomendado por exibirem um sistema radicular ramificado que penetra em camadas profundas do solo (BERTONI e LOMBARDI NETO, 2008). Como exemplo de leguminosa pode-se citar a bracatinga (*Mimosa scabrella*), uma espécie arbórea nativa, adaptada a solos ácidos e empregada em projetos de recuperação de áreas degradadas (SILVA, 2016).

Além de se associarem com bactérias fixadoras de nitrogênio denominadas rizóbios, várias espécies de leguminosas arbóreas são capazes de formar simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) (SIQUEIRA et al., 2007). Estes fungos pertencem ao Filo Glomeromycota e são biotróficos obrigatórios, dependendo da planta para completar seu ciclo de vida. Os FMA são capazes de absorver água e nutrientes do solo para a planta, que fornece fotoassimilados ao fungo simbionte (BI et al., 2005). Sua rede de hifas penetra na raiz e se espalha no solo transformando-se em uma extensão da raiz, aumentando a área e a eficiência de absorção de nutrientes do solo (SCHÜBLER et al., 2001), facilitando a adaptação em diferentes ecossistemas e aumentando a tolerância das plantas à estresses bióticos e abióticos.

A revegetação em áreas degradadas pode aumentar a riqueza de espécies de FMA, bem como facilitar o aumento da produção de proteínas do solo, como a glomalina, molécula que entre muitas funções, contribui com a estabilização de agregados do solo (SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2012; VIANA e SANTOS, 2010). A micorrização melhora a utilização e conservação dos nutrientes disponíveis no solo, além de incrementar a biomassa microbiana e melhorar a estrutura do solo (VILELA et al., 2014). Esses efeitos podem ser acentuados quando analisados nutrientes que possuem baixa mobilidade no solo, como P, Zn e Cu.

Os benefícios da inoculação de plantas com FMA são muito estudados e, atualmente, pesquisas têm demonstrado que a interação entre características do ambiente e genótipos dos FMA interferem no desenvolvimento dessa associação. Esporos de FMA são estruturas multinucleadas, e essa característica pode ser fonte de grande variabilidade genética entre isolados da mesma espécie de FMA (BOON et al., 2013; HIJRI e SANDERS, 2005; KUHN et al., 2001; NOVAIS, 2012; PRINGLE et al., 2000; RODRIGUEZ et al., 2004). Características como estrutura, umidade, temperatura e tamanho das partículas do solo, além de teores de nutrientes e a composição vegetal do solo de origem dos isolados e formas de armazenamento em laboratório, são relatadas como fatores que podem proporcionar uma rápida adaptação genética dos FMA às condições ambientais (ANGELARD e SANDERS, 2011).

Possuir essas habilidades e ser capaz de auxiliar no crescimento de plantas em ambientes desfavoráveis para o desenvolvimento vegetal faz com que atuem como bioinoculantes (SALGADO, 2014), despertando o interesse da agricultura e programas de recuperação para proporcionar maior aproveitamento de elementos limitantes do crescimento das plantas, como o P (SOARES e SIQUEIRA, 2008).

Entre as diferentes espécies de FMA estudadas, *Rhizophagus clarus* apresentou fácil multiplicação em trabalhos que utilizaram rejeito de área de mineração de carvão como constituinte do substrato (ROCHA, 2016; STOFFEL, et al., 2016). Essa espécie de FMA é caracterizada pela produção de numerosos e pequenos esporos. Sua coloração varia de branco a amarelo escuro e seu formato normalmente globoso pode variar de elíptico, oblongo e muito irregular quando formados dentro das raízes. A distribuição do tamanho dos esporos dessa espécie de FMA está entre 100-260 μm , média = 182 μm (INVAM, 2016). A variabilidade genética em isolados de *R. clarus* foi observada no trabalho de Croll et al. (2009), que demonstraram que o conteúdo de nucleotídeos de um

esporo de FMA pode ser geneticamente diferente em um mesmo citoplasma e pode ser modificado em um período de tempo muito curto (ANGELARD et al., 2010), possibilitando a adaptação do isolado ao meio.

Trabalhos que buscaram a seleção de microrganismos facilitadores do estabelecimento e crescimento de plantas em áreas degradadas pela mineração de carvão no Brasil são recentes (GONZALEZ et al., 2014a; GONZALEZ et al., 2014b; ROCHA, 2016; MEYER et al., 2016; MOURA et al., 2013; STOFFEL et al., 2016) e compreender a interação microrganismos-plantas nessas áreas é importante para que se consiga aperfeiçoar o processo.

Outros produtos podem ser utilizados em projetos de recuperação de áreas degradadas que tornem o ambiente mais propício para o crescimento vegetal, como o biocarvão. Esse produto é obtido da pirólise lenta de materiais orgânicos, apresentando altos teores de C e grande área superficial devido a sua porosidade. Esses microporos naturais disponibilizam espaços no solo para o crescimento de microrganismos, contribuindo com a fertilidade do solo e consequente melhoria nas suas propriedades químicas, físicas e biológicas (LEHMANN et al., 2003; SCHMIDT e SKJEMSTAD, 2002; STEINER et al., 2007). A aplicação de biocarvão aumenta o pH do solo, diminui a saturação de Al nos solos ácidos, melhorando a produtividade e retenção de nutrientes (SANCHEZ e COCHRANE, 1980). Por possuir funcionalidades ácidas em sua superfície decorrente da presença de grupos fenólicos, lactonas e grupos carboxílicos, tem o potencial de adsorver nutrientes e evitar perdas por lixiviação (MORALES, 2010).

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da inoculação de quatro isolados de *R. clarus* no crescimento e na absorção de fósforo por *Mimosa scabrella* em substrato contendo rejeito de mineração de carvão, com o intuito de utilizar as plantas em programas de revegetação de solos degradados pela atividade de mineração de carvão na região do extremo-sul do estado de Santa Catarina.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia do Solo no Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Catarina (MIP/CCB-UFSC). O substrato utilizado foi uma mistura de solo coletado da área de empréstimo para revegetação de áreas

degradadas pela mineração de carvão na região carbonífera de Criciúma-SC, acrescido de biocarvão (produzido pela pirólise lenta à 400 °C de cama de aviário) em concentração de 3,5% (v/v). O substrato sem a adição de biocarvão apresentou as seguintes características químicas: $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} = 3,8$; mat. orgânica = 86 g kg^{-1} ; $\text{Al}^{3+} = 6,9$ cmolc dm^{-3} ; Ca^{2+} e Mg^{2+} trocáveis = 1,9 e 3,1 cmolc dm^{-3} , respectivamente; P-Mehlich-1 = 0,84 mg dm^{-3} ; e teores de elementos-traço, em mg kg^{-1} : 8,60 (As), 17,3 (Cd), 11,3 (Cr), 17,7 (Cu), 125 (Pb) e 422 (Zn), sendo muitos desses superiores aos valores de prevenção da lista de referência da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CONAMA, 2009). O pH final com a adição de 3,5 % de biocavão foi 5,7.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos de inoculação de FMA no crescimento da leguminosa arbórea bracatinga (*Mimosa scabrella*), com dez repetições. Foram testados quatro isolados de *Rhizophagus clarus*, além de um tratamento controle não inoculado. As sementes de bracatinga foram submetidas à quebra de dormência física com água a 80 °C durante 5 minutos e mantidas em água por mais 18h com posterior lavagem em água corrente.

Foram semeadas três sementes por tubete (300 cm^3), e após a estabilização das mudas, apenas uma foi mantida. A inoculação dos propágulos fúngicos foi realizada junto à semeadura por meio de 200 esporos por tubete aplicados próximos às sementes. Sete dias após a germinação das sementes, se iniciou a aplicação de 20 mL de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) sem fósforo (para evitar inibição da colonização micorrízica) diluída quatro vezes, uma vez por semana, de modo a fornecer nutrientes para as plantas. A temperatura média dentro da casa de vegetação foi de 19 °C e as máximas e mínimas registradas de 32 e 6 °C, respectivamente. O experimento foi conduzido por um período de 91 dias.

Caracterização dos isolados

Foram utilizados quatro isolados do FMA *Rhizophagus clarus* (Nicolson & Schenck) C. Walker & A. Schüssler, sendo assim designados: “UFSC 14”, pertencente à coleção de FMA do Laboratório de Microbiologia do Solo da Universidade Federal de Santa Catarina; o isolado “RJN102A”, doado pela Coleção Internacional de Culturas de Glomeromycota (CICG) da Fundação Universidade Regional de Blumenau; o isolado “*Glomus clarum*” (antiga nomenclatura) enviado pelo Departamento de Ciência do Solo

da Universidade Federal de Lavras (isolado “UFLA R.c.”), e o isolado “Embrapa-A5” pertencente à Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia (COFMEA).

O isolado UFSC 14 foi obtido de área de mineração de carvão no Sul de Santa Catarina, na cidade de Criciúma no ano de 2011 em solo rizoférico de espécies vegetais presentes nas áreas de mineração de carvão, incluindo bracatinga (*Mimosa scabrella*), maricá (*Parapiptadenia rigida*), acácia negra (*Acacia decurrens*), e braquiária (*Brachiaria decumbens*) (STOFFEL et al., 2016). O isolado foi mantido na coleção com multiplicações sequenciais em culturas armadilhas em vasos contendo *Brachiaria decumbens* por um período de quatro meses, com aplicação de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) diluída quatro vezes sem fósforo quando as plantas apresentavam sinais de deficiência nutricional.

O isolado UFLA R.c. foi incorporado à coleção da Universidade Federal de Lavras em 1985, isolado de solo de campo de gramíneas em Lavras-MG e multiplicado desde então em vasos com substrato solo e areia na proporção de 2:1, associadas a *B. decumbens*, também com aplicação de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) sem fósforo.

Os isolados RJN102A (CICG- FURB) e Embrapa-A5 (Embrapa Agrobiologia) foram obtidos do mesmo isolado da Flórida-USA, pertencentes à *International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi – INVAM*, na *West Virginia University*, porém, cada um dos isolados foi submetido a diferentes processos de multiplicação.

O isolado RJN102A foi depositado na CICG em Fevereiro de 2010 pela EMBRAPA Milho e Sorgo (CNPMS), e multiplicado em *Sorghum bicolor* (de 2010 a 2014) e *Brachiaria brizantha* (de 2014 a 2016). Inicialmente o substrato utilizado foi uma mistura de areia, argila expandida e solo (2:2:1, pH = 6,0) de 2010 a 2014. Mais recentemente (2014 a 2016), o substrato utilizado para multiplicação foi uma mistura de solo e areia quartzosa (1:1, pH = 5,4) com tamanho médio de grão de 0,9 mm. O solo é um Cambissolo coletado na profundidade 0-20 cm e passado em peneira de 4 mm. Solução de Hoagland com ou sem fósforo eram aplicadas dependendo das condições da planta.

O isolado Embrapa-A5 foi obtido inicialmente do INVAM, seguido de multiplicação pela UFLA e, em 1990, depositado na Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia (COFMEA), multiplicado em associação à *Brachiaria decumbens* em solo areia, argila, solo de mata (1:1:1) autoclavado sem a aplicação de nutrientes.

Em virtude do pouco material recebido de alguns isolados, todos foram previamente multiplicados durante três meses em casa de vegetação associadas à *Brachiaria decumbens*. O substrato foi o mesmo utilizado para o experimento. Não se fez uso de nenhuma forma adicional de nutrição mineral para as plantas.

Avaliações

Ao final do experimento foram avaliadas a altura e diâmetro do caule. As plantas foram separadas em raízes e parte aérea. Amostras de raízes de aproximadamente 1,0 g foram coletadas para avaliação da colonização micorrízica seguindo o método de intersecção das linhas cruzadas descrito por Giovannetti e Mosse (1980). A parte aérea das plantas foi seca em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 60 °C para a determinação da matéria seca. O teor de fósforo foi determinado por espectrofotometria com adição de molibdato de amônio seguindo o procedimento descrito por Tedesco et al. (1995).

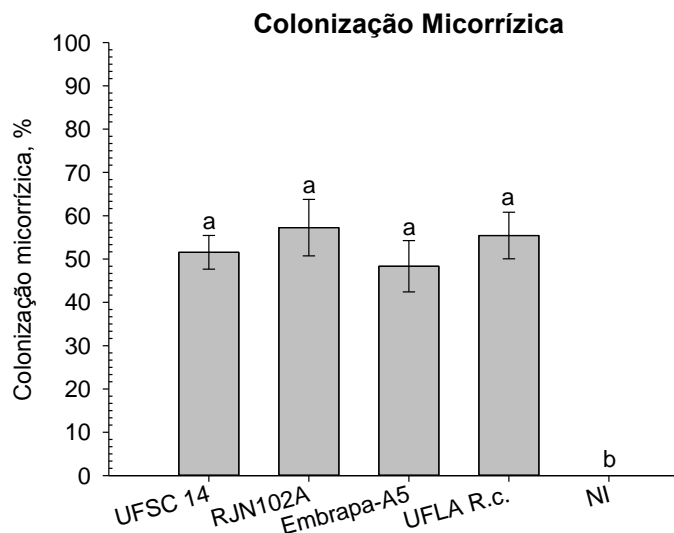
Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias realizada pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade utilizando-se o software SISVAR v.5.3 (FERREIRA, 1998). Os dados de percentual de colonização micorrízica foram normalizados pela transformação: $\text{arc seno } (\% \text{ colonização}/100)^{0,5}$.

Resultados e Discussão

Todos os isolados de *R. clarus* promoveram colonização micorrízica da bracatinga com valor percentual médio de 53 % (Fig. 1), não havendo diferença significativa entre os isolados. Valores similares de colonização micorrízica para bracatinga inoculada com esse FMA foram encontrados nos trabalhos de Stoffel et al. (2016), onde foi utilizado o isolado UFSC 14, e Rocha (2016), que avaliou o isolado RJN102A em solo de áreas de mineração de carvão. A alta capacidade infectiva de *R. clarus* (SANTOS et al., 2000) associada ao número inicial de 200 esporos inoculados

junto às sementes, pode ter amenizado o efeito da possível diversidade genética dos isolados que poderia afetar o grau de colonização micorrízica na planta simbiótica.

Figura 1. Colonização micorrízica de mudas de bracatinga inoculadas com isolados de *R. clarus* e crescidas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão e 3,5 % de biocarvão.



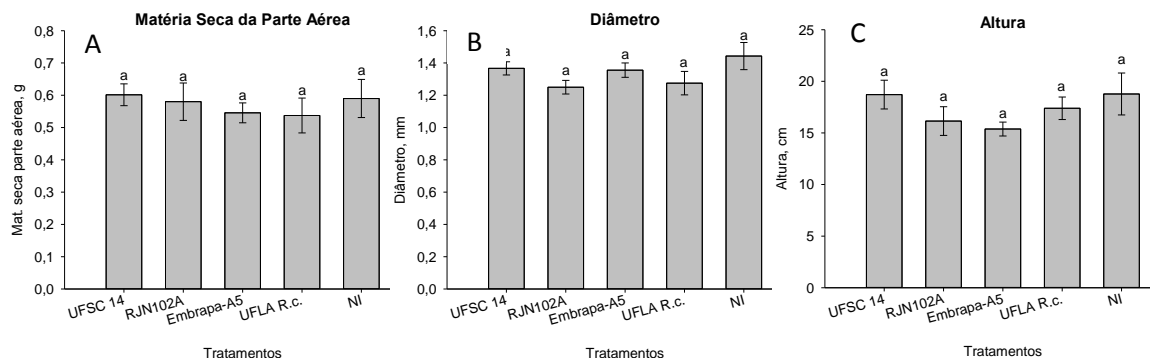
Os FMA estão inseridos no filo Glomeromycota e possuem uma grande diversidade morfológica, bem como características de crescimento como esporulação, capacidade infectiva e colonização. No trabalho de Santos et al. (2000), *G. clarum* (*R. clarus*) foi descrito com uma capacidade infectiva alta, sendo capaz de colonizar raízes com um período de exposição de apenas uma semana, diferente de espécies do gênero *Gigaspora*, onde a observação da colonização foi mais tardia. Isso pode ter favorecido a similaridade entre as médias.

A capacidade infectiva avalia o tempo em que a colonização micorrízica leva para se estabelecer. Quanto mais curto for esse período, mais rápido pode-se perceber os benefícios da simbiose. A capacidade infectiva e a eficiência da micorrização não estão diretamente relacionadas ao número de propágulos presentes no solo, porém algumas espécies podem ser sensíveis às condições do substrato em que foram multiplicadas ou armazenadas (CAPRONI et al., 2003).

Quanto aos valores de produção de matéria seca da parte aérea, diâmetro e altura das mudas de bracatinga (Fig. 2 A, B e C), não foram encontradas diferenças estatísticas entre os tratamentos. Além disso, os resultados foram similares aos observados por Rocha (2016), empregando o mesmo substrato testado no presente trabalho. Por possuir altos teores de carbono e grande área superficial devido a sua

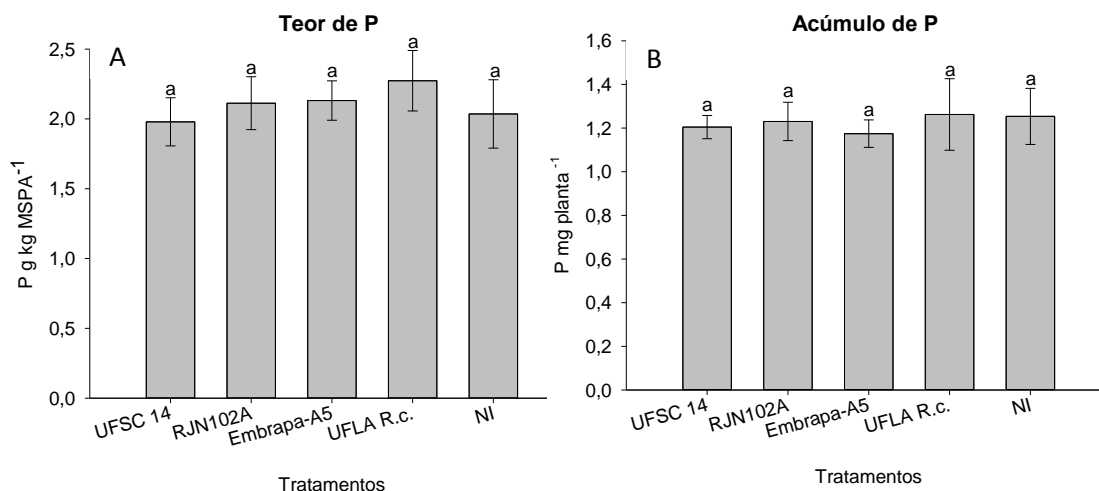
porosidade, o biocarvão pode ter contribuído na fertilidade do solo (LEHMANN et al., 2003; SCHMIDT e SKJEMSTAD, 2002; STEINER et al., 2007). A capacidade de corrigir o pH do solo e adsorver nutrientes (SANCHEZ & COCHRANE, 1980), também pode ter atenuado a condição desfavorável ao crescimento vegetal oferecida pelo substrato contendo rejeito de mineração de carvão.

Figura 2. Crescimento de mudas de bracatinga inoculadas com isolados de *R. clarus*, e crescidas em solo contendo rejeito de mineração de carvão em 3,5 % de biocarvão.



Da mesma forma, não foram encontradas diferenças estatísticas para o teor e acúmulo de fósforo entre os isolados de *R. clarus* e o tratamento controle não inoculado (Fig. 3 A e B). Essa tendência também pode ter ocorrido devido à presença do biocarvão no solo, sugerindo que ele pode ter aumentado a quantidade de P disponível (WARNOCK et al., 2007), reduzindo os efeitos da inoculação dos FMA e o efeito negativo do ambiente não propício que solos de áreas degradadas pela mineração fornecem para o desenvolvimento das mudas.

Figura 3. Teor e acúmulo de fósforo na parte aérea de mudas de bracatinga inoculadas com isolados de *R. clarus*, e crescidas em solo de rejeito de áreas de mineração de carvão com 3,5 % de biocarvão.



De acordo com Halvin et al. (2005) o pH indicado para o plantio é na faixa de 5,0 a 6,5, onde o fósforo inorgânico fica disponível para a absorção de plantas e micorrizas na forma de ortofosfatos. Com a adição de 3,5 % de biocarvão, o pH do solo utilizado nesse experimento aumentou de 3,8 para 5,7, podendo ser esse um dos motivos pelo qual as plantas não inoculadas não diferiram daquelas micorrizadas quanto ao crescimento (Fig 2) e estado nutricional de P (Fig. 3).

Os isolados utilizados nesse experimento passaram por diferentes formas e períodos de armazenamento, variando na composição do substrato utilizado, no suplemento nutricional via solução nutritiva, espécies utilizadas para multiplicação e frequência dessas multiplicações. O período de posse dos isolados também variou de 5 anos para o UFSC-14, 6 anos o RJN102A, 26 anos para o Embrapa-A5, e 36 anos para o UFLA-R.c. Aparentemente, a alta capacidade infectiva e competitividade do *R. clarus* descritas na literatura (SANTOS et al., 2000), além dos benefícios promovidos pela adição de biocarvão ao solo, diminuíram as diferenças entre os isolados avaliados e mostram que, apesar de passarem por processos de armazenamento distintos, a eficiência dos isolados de *R. clarus* não foi afetada.

O processo de recuperação de áreas degradadas pela mineração de carvão pode ser facilitado com a introdução de espécies vegetais adaptadas às condições locais, e de mudas pré-inoculadas com espécies de FMA, promovendo maior competitividade e eficiência no aporte nutricional das mudas (CALDEIRA et al., 1997; VANDERSEN et al., 2007) aumentando a tolerância a estresses bióticos e abióticos que essas mudas estão sujeitas. O isolado autóctone das áreas de carvão não diferiu em relação aos isolados de áreas não degradadas nos parâmetros avaliados e isso revela que esse FMA é capaz de se adaptar à solos degradados, apresentando potencial para ser empregado em programas de inoculação de mudas e de competir com demais populações de FMA locais que apresentam menor eficiência simbiótica. Pode-se ainda fazer uso de insumos como o biocarvão, que estimulam o crescimento vegetal devido às suas diversas propriedades, conseguindo amenizar os efeitos da degradação do solo e otimizar o processo de revegetação.

Conclusões

Isolados de *R. clarus* de diferentes procedências e métodos de multiplicação têm a mesma capacidade de micorrização em mudas de bracatinga em substrato contendo rejeito de mineração de carvão.

O isolado de *R. clarus* autóctone das áreas de mineração (UFSC 14) tem o mesmo potencial do que os demais isolados provenientes de áreas não degradadas quanto ao crescimento e absorção de P pela bracatinga.

Referências Bibliográficas

- AGUIAR, D. C.; BALESTIERI, J. A. P. P. Carvão mineral: um estudo sobre o consumo nacional e respectivas emissões de CO₂. **XXVII Encontro nacional de engenharia de produção**. Foz do Iguaçu-PR. Brasil, 2007
- ANEEL. **Atlas de Energia Elétrica do Brasil**. Agência Nacional de Energia Elétrica. Brasília. 236p. 2008.
- ANGELARD, C.; COLARD, A.; NICULITA-HIRZEL, H.; CROLL, D.; SANDERS, I.R. Segregation in a mycorrhizal fungus alters rice growth and symbiosis-specific gene transcription. **Current Biology** 20: 1216–1221. 2010.
- ANGELARD, C.; SANDERS, I.R. Effect of segregation and genetic exchange on arbuscular mycorrhizal fungi in colonization of roots **New Phytologist**. 189: 652–657. 2011.
- BERTONI, J; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do Solo**, 7ª Edição, Editora Ícone. São Paulo, SP. 355p. 2008.
- BI, Y.-L.; WU, F.-Y. & WU, Y.-K. Application of arbuscular mycorrhizal in ecological restoration of areas affected by coal mining in China. **Acta Ecologica Sinica**, 25:2068-2073, 2005.
- BOON E, ZIMMERMAN E, ST-ARNAUD M, HIJRI M. Allelic Differences within and among Sister Spores of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus etunicatum* Suggest Segregation at Sporulation. **PLoS ONE**. 2013.
- BRASIL. Departamento Nacional de Produção Mineral. In: LIMA, T. M.; NEVES, C. A. R. (Coord.). **Sumário mineral**. Brasília: DNPM, 141 p.56-57, 2014.

- CALDEIRA, M. V. W.; SILVA, E. M. R.; FRANCO, A. A.; ZANON, M. L. B.. Crescimento de leguminosas arbóreas em respostas a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Florestal**, v.7, n.1, 1997 ANEEL. Atlas de Energia Elétrica do Brasil. Agência Nacional de 375 Energia Elétrica. Brasília. 236p. 2008.
- CAMPANER, V. P.; LUIZ-SILVA, W.; Processos físico-químicos em drenagem ácida de mina em mineração de carvão no sul do Brasil. **Quim. Nova**. Vol. 32, No. 1. 2008.
- CAPRONI, A. L.; FRANCO, A. A.; BERBARA, R. L. L.; GRANHA, J. R. D. O.; RIBEIRO, E. M. S.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Capacidade infectiva de fungos micorrízicos arbusculares em áreas reflorestadas após mineração de bauxita no Pará. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 937-945, ago. 2003
- CONAMA. Lista de valores orientadores para solos e para águas subterrâneas. Resolução nº 420. DOU nº 249, de 30 de Dezembro de 2009.
- CROLL, D.; GIOVANNETTI, M.; KOCH, A, M.; SBRANA, C.; EHINGER, M.; LAMMERS, P. J.; SANDERS, I R. Nonsell vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. **New Phytologist** (2009) 181: 924–937
- 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**,. 23p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 77) 1998
- FERREIRA, D. F. **Sistemas de análise estatística para dados balanceados**. Lavras: UFLA, 141 p. 1998.
- FRANCO, A. A.; CAMPELO, E. F.; SILVA, E. M. R.; FARIA, S. M. Revegetação de solos degradados. Seropédica, CNPBS, 11p. (**EMBRAPA-CNPBS – Comunicado Técnico no 09**). 1992.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal engogne species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 46, n. 2, p. 235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist, Oxford**, v.84, n.3, p.489-500, 1980.
- GONZÁLEZ, A. H.; LONDONO, D. M. M. ; BINATI, R. ; INAGAKY, K. ; GONZALEZ, D. ; RADETSKI, M. ; MEYER, E. ; STOFFEL, S. C. G. ; ARMAS,

- R. D. ; GIACHINI, A. J. ; ROSSI, M. J. ; SOARES, C. R. F. S. . eficiência simbiótica de rizóbios isolados de áreas de mineração de carvão em vicia sativa. in: xiv encontro nacional de microbiologia ambiental - enama, 2014, João Pessoa. **ANAIAS XIV Encontro Nacional de Microbiologia Ambiental - ENAMA**, 2014a.
- GONZÁLEZ, A. H.; NASCIMENTO, F. X. ; ROSSI, M. J. ; SOARES, C. R. F. S. . Promoción del Crecimiento vegetal de rizóbios autóctonos de áreas de minería de carbón. In: **17 Convención científica de Ingeniería y Arquitectura**, 2014, Havana. **Anais 17 Convención Científica de Ingeniería y Arquitectura**, 2014b.
- HALVIN, J. L.; TISDALE, S. L.; NELSON W. L.; BEATON, J. D. **Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management**. 7th ed. New Jersey: Pearson-Prentice Hall, 2005. 515p
- HIJRI, M.; SANDERS I. R. Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei. **Nature**. vol 433. 2005.
- HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. **California Agriculture Experimental Station Circular**, 1950. 347p.
- INVAM. Disponível em: <<http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification/glomaceae/rhizoglyphus/clarum>> Acesso em 9 de novembro de 2016.
- KUHN, G.; HIJRI, M.; SANDERS, I. R. Evidence for the evolution of multiple genomes in arbuscular mycorrhizal fungi. **Nature**. Vol 414. 2001.
- LEHMANN, J.; SILVA JR, J. P.; STEINER, C.; NEHLS, T.; ZECH, W.; GLASER, B. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. **Plant and Soil**, Netherlands, v. 249, p. 343-357, 2003.
- MEYER, E.; LONDOÑO, D. M. M.; DE ARMAS, R. D.; GIACHINI, A. J.; ROSSI, M. J.; STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S. Arbuscular mycorrhizal fungi in the growth and extraction of trace elements by *Chrysopogon zizanioides* (vetiver) in a substrate containing coalmine wastes. Aceito in **Int J Phytoremediation**, 2016.
- MORALES, M. M.. Efeito do biocarvão sobre o comportamento da matéria orgânica e do fósforo em solo degradado. **Tese de doutorado** Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP – Campus de Botucatu, 2010.
- MOURA, G. G. D. ; STOFFEL, S. C. G. ; MEYER, E. ; WENDT, N. C. ; ARMAS, R. D. ; GIACHINI, A. J. ; ROSSI, M. J. ; SOARES, C. R. F. S. ; GONZÁLEZ, A. H.. Aislamiento y Selección de Rizobios Autóctonos de Áreas Degradadas por Minería de Carbón para uso en Leguminosas Arbóreas en el Sur de Brasil.. In: **Taller**

- internacional de investigaciones sobre manejo de ecosistemas frágiles**, 2013, cienfuegos. Memorias del taller internacional de investigaciones sobre manejo de ecosistemas frágiles, 2013.
- NOGUEIRA N. O.; DE OLIVEIRA, O. M.; MARTINS, C. A. S.; BERNARDES, C. O. Utilização de leguminosas para recuperação de áreas degradadas. **Enciclopédia biosfera**. Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, N.14; p. – 2012
- NOVAIS, C. B. Anastomose e caracterização molecular e funcional de fungos micorrizicos arbusculares. **Tese de doutorado**. Universidade Federal de Lavras. 2012.
- PRINGLE, A.; MONCALVO, J.M.; VILGALYS, R. High levels of variation in ribosomal DNA sequences within and among spores of a natural population of the arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora colossica*. **Mycologia** 92: 259–268. 2000.
- ROCHA, D. A. G. Biocarvão e fungos micorrizicos arbusculares na produção de mudas de bracatinga (*Mimosa scabrella*) e cedro (*Cedrela fissilis*) em solo de áreas de mineração de carvão. **Dissertação de mestrado**. Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Universidade Federal de Santa Catarina. 2016.
- ROCHA-NICOLEITE, E.; CAMPOS, M. L; CITADINI-ZANETTE, V.; SANTOS, R.; MARTINS, R.; SOARES, C. R. F. S. **Mata Ciliar: implicações técnicas sobre a reatuação após a mineração de carvão.criciúma**: SATC, 2013.
- RODRIGUEZ, A.; CLAPP, J. P.; DODD, J. C. Ribosomal RNA gene sequence diversity in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). **Journal of Ecology** 2004.
- ROSA, D. J.; AMBROSINI, V. G.; BRUNETTO, G.; SOARES, C. R. F. S. ; BORGHEZAN, M.; PESCADOR, R. Parâmetros fisiológicos em videiras 'Paulsen 1103' (x) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com cobre. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 31, p. 14-23, 2016.
- SALGADO, F. H. M. Fungos micorrízicos arbusculares e estimulante da colonização micorrizica em culturas agrícolas em solo de cerrado. **Tese de doutorado**. Universidade Federal de Goiás. 2014.
- SANCHEZ, P.A.; COCHRANE, T. T. 1980. Soils constraints in relation to major farming systems of tropical America. International Rice Research Institute, Los Banos. **Chemistry of tropical America**. International Rice Research Institute, Los Banos. p.106-139. 1991.`

- SANTOS, A. L.; de-SOUZA, F. A.; BERBARA, R. L. L.; GUERRA, J. G. M. Estabelecimento e capacidade infectiva de *gigaspora margarita* e *glomus clarum* em solo sob erosão. **Acta bot. bras.** 14(2) : 127-139. 2000
- SCHMIDT, M. W. I.; SKJEMSTAD, J. O. Carbon isotope geochemistry and nanomorphology of soil black carbon: black chernozemic soils in central Europe originate from ancient biomass burning. **Global Biogeochemistry Cycles**, Mainz, v. 16, p. 1123, 2002.
- SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.*, 105(12):1413-1421, 2001.
- SILVA, C. A. F. A.; FERREIRA, O. C.; GUIDICINI, O. Y.M.; Eidelman, F.; MACEDO, R. L.; DEPPE, L. Emissões de dióxido de carbono por queima de combustíveis: abordagem top-down. **Ministério da Ciência e Tecnologia**, 2010.
- SILVA, C. F.; DE ARAÚJO, J.L.S.; DA SILVA, E. M. R.; PEREIRA, M. G.; SCHIAVO, J. A.; FREITAS, M. S. M. SAGGIN-JUNIOR, O. J. MARTINS, M. A. Comunidade de fungos micorrízicos arbusculares: diversidade, composição e glomalina em área revegetada com sesbânia. **R. Bras. Ci. Solo**, 38:423-431, 2014
- SILVA, C. F.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L.; DA SILVA, E. M. R.; PEREIRA M. G.; FREITAS, M. S. M.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; MARTINS, M. A. Fungos micorrízicos arbusculares e proteína do solo relacionada à glomalina em área degradada por extração de argila e revegetada com eucalipto e acácia. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 4, p. 749-761. 2012.
- SILVA, E. P. Atributos do solo e comunidades microbianas associadas à *bracatinga* (*mimosa scabrella* benth.) em áreas de mineração de carvão em recuperação. **Dissertação de mestrado**. Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.
- ANEEL. Atlas de Energia Elétrica do Brasil. Agência Nacional de Energia Elétrica. Brasília. 236p. 2008.
- SILVA, S.; SOARES, C.R.F.S.; SIQUEIRA, J. O. Fungos micorrízicos no crescimento e extração de metais pesados pela *Brachiaria decumbens* Stapf. em solo multicontaminado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** (1977. Impressa), v. 41, p. 00-009, 2006.

- SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S.; SANTOS, J.G.D.; SCHNEIDER, J.; CARNEIRO, M.A.C. Micorrizas e a degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. **Tópicos em Ciência do Solo**, 5:219-306, 2007.
- SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. **Biology and Fertility of Soils**, 44: 833-841, 2008.
- STEINER, C. et al. Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil. **Plant and Soil**, Berlin, v. 291, p. 275-290, 2007.
- STOFFEL, S. C. G.; ARMAS R. D.; GIACHINI, A. J.; ROSSI, M. J.; GONZALEZ, D., MEYER, E.; NICOLEITE, C. H.; ROCHA-NICOLEITE, E.; SOARES, C. R. F. S. Micorrizas arbusculares no crescimento de leguminosas arbóreas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. **Cerne**. v. 22 n. 2, p. 181-188. 2016.
- TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A. Análise de solos, plantas e outros materiais. 2.ed. Porto Alegre:UFRGS, 174p. (**Boletim Técnico de Solos**, 5). 1995.
- VANDERSEN, J.; NISHIDATE, F. R.; TOREZAN, J. M. D.; ZANGARO, W. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. **Acta bot. bras.** 21(4): 753-765. 2007
- VIANA, J. H. M.; SANTOS, E. D. A fração glomalina e a estabilidade de agregados de diferentes Latossolos. **XVIII Reunião brasileira de manejo e conservação do solo e da água**. Novos caminhos para agricultura conservacionista no brasil. 2010.
- VILELA, L. A. F.; SAGGIN JÚNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, V. L. S.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a cerrado oxisol in crop sequence. *Ciênc. Agrotec., Lavras*, v.38, n. 1, p.34-42, jan./fev., 2014. **ANEEL. Atlas de Energia Elétrica do Brasil. Agência Nacional de 375 Energia Elétrica. Brasília**. 236p. 2008.
- WARNOCK D., LEHMANN J, KUYPER T, RILLIG M, Mycorrhizal responses to biocarvão in soil e concepts and mechanisms. **Plant and Soil**, 2007.p 9-20. 2007.