

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

LUCIANO ALVES

**“SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES CONTIDOS EM ROCHAS POR FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS”**

Florianópolis

2006

LUCIANO ALVES

**“SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES CONTIDOS EM ROCHAS POR FUNGOS
ECTOMICORRÍZICOS”**

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina. Orientadores: Prof. Dr. Germano Nunes Silva Filho e Prof^a Dr^a Vetúria Lopes de Oliveira.

FLORIANÓPOLIS

2006

ALVES, Luciano.

Solubilização de nutrientes contidos em rochas por
fungos ectomicorrízicos. / Luciano Alves. Florianópolis, 2006.
99 p.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) -
Universidade Federal de Santa Catarina.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, por tudo.
- Em especial ao professor Dr. Germano Nunes Silva Filho e a professora Dr^a Vetúria Lopes de Oliveira pela amizade, companheirismo, ajuda e orientação durante estes sete anos de convivência, desde a graduação até o mestrado.
- Ao Departamento de Microbiologia e Parasitologia e ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFSC pela oportunidade de realização do curso, bem como da utilização de suas instalações.
- Aos colegas da divisão de Biologia Celular, pela pronta disponibilidade na utilização das instalações da sala de uso comum desta divisão, e principalmente da capela de exaustão.
- Ao laboratório de solos do Departamento de Engenharia Rural do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, pela utilização das instalações e equipamentos, e em especial ao funcionário Francisco Vetúlio Wagner, pela ajuda e disposição na realização das análises.
- Aos colegas e amigos da Divisão de Microbiologia do Solo: Betina, Bruna, Camila, Charles, Elza, Elzimar, Gisela, Leyza, Luiz Afonso, Márcio, Paulo e Pedro, pelo companheirismo, amizade, ajuda na montagem dos experimentos e momentos de descontração.
- Aos meus familiares, em especial aos meus avós, Waldemiro e Tereza, por sempre terem acreditado em meu potencial e oportunizarem minha formação, desde os meus primeiros passos até a conclusão da Pós-Graduação.
- À minha mãe Gorete, as minhas irmãs, Ana e Samara e a minha sobrinha, Maria Eduarda Alves Specht.
- À Andréa, por tudo que representa para mim; pelo incentivo e estímulo na realização e conclusão deste curso; pelos conselhos e broncas, sempre visando o meu crescimento, tanto humano como profissional; e pela compreensão.
- A FAPESC – Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica do Estado de Santa Catarina – por parte dos recursos destinados à condução deste trabalho.
- À todos, que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

*"Aquele que sabe e sabe que sabe é sábio - segue-o.
Aquele que sabe e não sabe que sabe está a dormir - acorda-o.
Aquele que não sabe e não sabe que não sabe é um idiota - enxota-o.
Aquele que não sabe e sabe que não sabe é simples - ensina-o."*

Provérbio Árabe

RESUMO

A escassez de madeira é uma ameaça ao setor de base florestal, gerando a busca por alternativas que aumentem a produção. Pode-se aumentar a produção aumentando-se a área plantada ou a produtividade. No segundo caso, pela aplicação de doses crescentes de fertilizantes solúveis, principalmente fósforo e potássio. Esses fertilizantes, além de causar danos aos ecossistemas, são, em grande parte, importados, onerando a produção. No entanto, o Brasil possui uma variedade de rochas com potencial de uso como fertilizantes, sendo sua utilização limitada pela baixa solubilidade dos nutrientes ali presentes. A melhoria na solubilidade dessas fontes pode ser conseguida pelo uso de microrganismos solubilizadores, dentre eles os fungos ectomicorrízicos (fECM). Com esse propósito, 25 isolados de fECM foram avaliados quanto ao potencial de solubilizarem fósforo e potássio a partir de rochas, sob condições de meio de cultura e de casa de vegetação. No primeiro estudo, os fungos foram cultivados em meio de cultura GEL líquido, suplementado com pó das rochas: granitos (pó da pedra saibrita, PCA, PCB e SB), flogopita olivina melilito, fonolito, brecha alcalina, arenito, carbonatito e rocha calcárea (CI). Após 30 dias, determinou-se o peso do micélio seco e o conteúdo de fósforo e potássio no micélio e no meio de cultura. As rochas brecha alcalina e pó da pedra saibrita foram as que permitiram maior mobilização desses elementos. Dentre os fungos, destacaram-se os isolados UFSC-Pt22, CSIRO-H1234, UFSC-Pt145 e UFSC-Pt186, na mobilização de potássio, e os isolados UFSC-Pt26, UFSC-Ch163, UFSC-Pt186 e UFSC-Pt188, na mobilização de fósforo. As rochas e os isolados mais eficientes foram selecionadas para um experimento em casa de vegetação, visando avaliar o seu potencial em substituição à adubação potássica e fosfática convencional. O inoculante fúngico foi produzido numa mistura turfa-vermiculita e meio de cultura MNM. Após 60 dias, o inoculante foi lavado e adicionado ao substrato de plantio (turfa-vermiculita), na proporção de 10%, e distribuído em recipientes de 60 mL. A esse substrato foi adicionado pó das rochas, brecha alcalina ou pó da pedra saibrita, como fonte de fósforo ($0,5 \text{ mg pl}^{-1}$) e potássio (16 mg pl^{-1}), suplementando-se com solução nutritiva para fornecimento dos demais nutrientes. As plantas testemunhas receberam igual quantidade desses elementos na forma solúvel: $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e KCl. Após 90 dias, determinaram-se a altura, o comprimento radicular, a porcentagem de colonização radicular, o peso da matéria seca e o conteúdo de fósforo e potássio da parte aérea. A brecha alcalina mostrou eficiência superior ao pó da pedra saibrita no suprimento de fósforo e potássio às plantas, mas inferior em relação à adubação solúvel. Entretanto, essa rocha mostrou-se superior aos demais tratamentos de adubação nos parâmetros de crescimento, apresentando-se como uma alternativa à adubação convencional na promoção do crescimento e no suprimento desses elementos às plantas. Os isolados UFSC-Pt22 (*Pisolithus* sp.) e UFSC-Pt186 (*P. microcarpus*), destacaram-se na mobilização de potássio e fósforo e na promoção do crescimento de plantas de *Eucalyptus dunnii*, principalmente em combinação com a brecha alcalina.

Palavras chaves: fungos ectomicorrízicos, rochas, fósforo, potássio, *Eucalyptus dunnii*.

ABSTRACT

The low offer of timber in the market demands new strategies to increase forest production. One alternative to augment forest production is represented by the increase of the planted surface and the other by the increase of the productivity. In this latter case, application of high doses of soluble fertilizers has been the most frequent practice. These fertilizers, besides being responsible by environmental impacts, are mostly imported contributing to increase timber prices. In Brazil there is a great variety of rocks able to be utilized as fertilizers. The main limitation to their use is the low solubility of the nutrients present in these materials. Solubilization of these nutrients sources may be achieved by some microorganisms among them ectomycorrhizal fungi (ECMf). With this objective in mind, 25 isolates of ECMf were studied in terms of their potential to solubilize phosphorus and potassium from rocks, under *in vitro* and greenhouse conditions. During a first essay, fungi were cultivated in liquid GEL medium containing among the components finely grounded powder of the following rocks: granites (granite powder, PCA, PCB and SB), phlogopyte, phonolyte, alkaline breccia, sand stone, carbonatite and a calcareous rock (CI). After 30 days, the dry weight of the mycelium and the phosphorus and potassium contents of the culture medium and mycelium were determined. Alkaline breccia and granite powder were the rocks that contributed to the higher mobilization of these elements. Among the fungi, isolates UFSC-Pt22, CSIRO-H1234, UFSC-Pt145 and UFSC-Pt186 were the most efficient in potassium mobilization, whereas UFSC-Pt26, UFSC-Ch163, UFSC-Pt186 e UFSC-Pt188, in phosphorus mobilization. These rocks and isolates were selected to a greenhouse study to determine their potential to promote plant growth when replacing soluble fertilizers of potassium and phosphorus. Fungal inocula were produced in a of peat-vermiculite mixture moistened with liquid MNM medium. After 60 days, inocula were washed with sterile water and added to the plant growth substrate (peat-vermiculite) at 10%. Rocks were also added as finely grounded powder, those employed as phosphorus source at 0.5 mg plant⁻¹ and those employed as potassium source at 16 mg plant⁻¹. Other nutrients were added as nutrient solution and the substrate was then distributed in 60 mL pots. Control plants were fertilized with the same amount of phosphorus and potassium in their soluble forms of Ca(H₂PO₄)₂·2H₂O and KCl. After 90 days plants were harvested and measured in terms of shoot height, root length, mycorrhizal colonization, dry weight, and shoot phosphorus and potassium contents. Alkaline breccia was more efficient than granite powder as a source of phosphorus and potassium for the plants although less efficient than soluble fertilizers. However, alkaline breccia presented a higher efficiency in promoting plant growth than all other treatments showing that it may be an alternative to conventional fertilization. Isolates UFSC-Pt22 (*Pisolithus* sp.) and UFSC-Pt186 (*P. microcarpus*), were the most efficient in promoting plant growth, mainly when combined to alkaline breccia.

Keywords: ectomycorrhizal fungi, rocks, phosphorus, potassium, *Eucalyptus dunnii*.

LISTA DE FIGURAS

1. Avaliação da colonização radicular pelo método das intersecções proposto por Giovanetti e Mosse (1980), modificada por Brundrett et al., 1996..... 65
2. Ectomicorrizas formadas em mudas de *Eucalyptus dunnii* adubadas com rochas em substituição a adubação potássica convencional pelos isolados UFSC-Pt22, *Pisolithus* sp. (a) e UFSC-Pt186 *Pisolithus microcarpus* (b)..... 72
3. Ectomicorrizas formadas em mudas de *Eucalyptus dunnii* adubadas com rochas em substituição a adubação fosfática convencional pelos isolados UFSC-Pt 186 (a) e UFSC-Pt188 (b), pertencentes a espécie *Pisolithus microcarpus*..... 78
4. Viabilidade de inoculante ectomicorrízico após 60 dias de crescimento em substrato sólido. (a) *Pisolithus* sp. (b) *Pisolithus microcarpus* (c) *Pisolithus microcarpus*. (d) *Pisolithus* sp. (e) *Pisolithus* sp. (f) *Chondrogaster angustisporus* (g) *Pisolithus* sp..... 80

LISTA DE TABELAS

2.1. Identificação e origem dos isolados de fungos ectomicorrízicos da coleção da UFSC.....	27
2.2. Composição, origem e nomenclatura das rochas utilizadas.....	28
2.3. Porcentagem de Fósforo e Potássio das rochas utilizadas.....	28
2.4. Matéria seca (mg/50 mL) de isolados de fungos ectomicorrízicos cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes tipos de rochas.....	34
2.5. Conteúdo de potássio solubilizado (mg) presente no micélio de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.....	36
2.6. Conteúdo de potássio solubilizado (mg) presente no meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.....	40
2.7. Conteúdo de potássio total solubilizado (mg) por isolados de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.....	42
2.8. Conteúdo de fósforo solubilizado (μg) presente no micélio de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.....	47
2.9. Conteúdo de fósforo solubilizado (μg) presente no meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas e cultivado com fungos ectomicorrízicos.....	50
2.10. Conteúdo de fósforo total solubilizado (μg) por isolados de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.....	53
3.1. Crescimento e teor de potássio de mudas de <i>Eucalyptus dunnii</i> inoculadas com fungos ectomicorrízicos e adubadas com rochas em substituição à adubação potássica convencional.....	67
3.2. Colonização radicular de mudas de <i>Eucalyptus dunnii</i> inoculadas com fungos ectomicorrízicos e adubadas com rochas em substituição à adubação potássica convencional.....	71
3.3. Crescimento e teor de fósforo de mudas de <i>Eucalyptus dunnii</i> inoculadas com fungos ectomicorrízicos e adubadas com diferentes fontes de fósforo em substituição à adubação fosfática convencional.....	75

3.4. Colonização radicular de mudas de <i>Eucalyptus dunnii</i> inoculadas com fungos ectomicorrizicos e adubadas com rochas em substituição a adubação fosfática convencional.....	79
--	-----------

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1	
REVISÃO DA LITERATURA	3
1.1. O Setor de base florestal.....	3
1.2. O uso de fertilizantes.....	7
1.3. O eucalipto.....	12
1.4. Micorrizas.....	14
1.5. Solubilização de nutrientes por fungos ectomicorrizicos.....	19
CAPÍTULO 2	
SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES CONTIDOS EM ROCHAS POR ISOLADOS DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS EM MEIO DE CULTURA GEL.....	24
2.1. INTRODUÇÃO.....	24
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
2.3.1. Crescimento de isolados de fungos ectomicorrizicos.	32
2.3.2.1. Potássio no micélio.....	35

2.3.2.2. Potássio no meio de cultura.....	38
2.3.2.3. Potássio total.....	41
2.3.2.4. Solubilização de fósforo.....	46
2.3.2.5. Fósforo no micélio.	46
2.3.2.6. Fósforo no meio de cultura.....	48
2.3.2.7. Fósforo total.....	51
CONCLUSÕES.....	57
 CAPÍTULO 3	
SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES CONTIDOS EM ROCHAS POR FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS E O CRESCIMENTO DE <i>Eucalyptus dunnii</i> MAIDEN.....	
3.1 – INTRODUÇÃO.....	58
3.2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	60
3.2.1. Produção de inoculante.	60
3.2.2. Produção das plântulas e do substrato de plantio.....	61
3.2.3. Inoculação e condução do experimento.....	62
3.2.4. Análise dos resultados.....	63
3.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
3.3.1. Rochas como fonte de potássio.....	65
3.3.2. Rochas como fonte de fósforo.....	74
CONCLUSÕES.....	82
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	83
REFERÊNCIAS.....	84
ANEXOS.....	95

INTRODUÇÃO

O setor de base florestal desempenha um importante papel social e econômico, seja através da geração de emprego, renda e divisas - resultantes da fabricação e comercialização de produtos derivados - e ecológico, seja através da conservação e preservação dos recursos naturais existentes.

Nos últimos anos, é evidente a redução nos valores das áreas plantadas com essências florestais, como reflexo da falta de incentivos fiscais governamentais, o que tem ameaçado a sustentabilidade do setor, com projeções nada otimistas para 2010 de um déficit interno de cerca de 27 milhões $\text{m}^3 \text{ano}^{-1}$ e mundial de 500 milhões de $\text{m}^3 \text{ano}^{-1}$ de madeira. Apesar da redução na área plantada, o consumo de produtos derivados, sejam móveis ou papel e celulose, é crescente, havendo a necessidade de alternativas objetivando o aumento da produção florestal, visando a redução dos impactos que um provável déficit poderia causar ao setor.

Este aumento pode ser conseguido através do aumento da área plantada, o que implicaria a utilização de áreas atualmente destinadas à produção de alimentos; ou através do aumento da produtividade. Este último pode ser promovido pela utilização de genótipos superiores ou pelo uso intensivo de fertilizantes. Neste caso, acarretando um aumento nos custos de produção, pela importação de insumos, em parte ou em sua totalidade, ou dos reagentes necessários a sua fabricação, como no caso dos adubos fosfatados.

Dos fertilizantes utilizados, o fósforo e o potássio mostram-se os mais limitantes para a produção vegetal, devido a problemas de fixação no solo ou de lixiviação, respectivamente.

O Brasil, possui uma ampla variedade de rochas e resíduos provenientes do

seu beneficiamento, com potencial de utilização em substituição total ou parcial aos adubos químicos solúveis. Entretanto, o principal problema para a utilização desses materiais é representado pela baixa solubilidade dos nutrientes ali presentes.

Os fungos ectomicorrízicos desempenham um importante papel na disponibilização de nutrientes contidos em rochas. Além disso, esses microrganismos formam associações com raízes de plantas de interesse florestal, como as do gênero *Eucalyptus* - as principais espécies utilizadas em programas de florestamento no país, correspondendo a cerca de 65% da área plantada - formando estruturas conhecidas como ectomicorrizas.

Este trabalho teve como objetivo estudar a capacidade de isolados de fungos ectomicorrízicos provenientes da coleção do Laboratório de Ectomicorrizas da UFSC, na liberação de nutrientes a partir de rochas e seus subprodutos, coletados em diferentes regiões do país e do Estado de Santa Catarina. Pretende-se, com isso, contribuir para o desenvolvimento de processo biotecnológico que permita a substituição total o parcial do fósforo e do potássio solúvel na promoção do crescimento de plantas.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1.1. O SETOR DE BASE FLORESTAL

Os produtos florestais têm sido utilizados pela espécie humana desde tempos imemoriais. Primeiro, como frutos e sementes coletados para alimentação e com o uso de troncos de árvores em abrigos primitivos. Mais tarde, na construção de casas, como parte de carros, barcos e aviões. Durante muito tempo, a madeira foi o principal combustível doméstico e industrial; para muitos países em desenvolvimento ela continua sendo uma das mais importantes fontes de energia.

No Brasil, na década de 50, a produção, transmissão e distribuição de energia elétrica e a expansão da telefonia exigiram centenas de milhares de postes e cruzetas; o crescimento das ferrovias aumentou a demanda de dormentes; e, finalmente, a construção de habitações empregou milhares de metros cúbicos de madeira. Até o final da década de 60, a indústria madeireira mostrava-se incipiente, não possuindo fontes seguras de abastecimento, observando-se uma exploração predatória dos recursos florestais (SANT'ANA; FREITAS, 2004). Tal situação fez com que os setores industrial e de pesquisa voltassem sua atenção para técnicas de preservação das reservas de madeiras (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRESERVADORES DE MADEIRA - ABPM, 2004).

A política de incentivos fiscais no final da década de 60, que objetivava diminuir a utilização indiscriminada dos recursos florestais naturais, bem como a implantação de florestas plantadas de crescimento rápido, contribuiu para a

expansão do setor, proporcionando uma ampla gama de benefícios à sociedade e ao meio ambiente (SANT'ANA; FREITAS, 2004).

O setor de base florestal tem contribuído com uma parcela importante para a sociedade brasileira, quer pela geração de produtos para consumo direto e indireto para a exportação, quer pela geração de emprego e renda e pela conservação e preservação dos recursos naturais renováveis. Em 2003, o Produto Interno Bruto (PIB) do setor florestal foi de US\$ 21 bilhões, cerca de 4% do PIB nacional. O setor de papel e celulose contribuiu com US\$ 7,5 bilhões, o de siderurgia e carvão vegetal com US\$ 4,2 bilhões e o de madeira e móveis com US\$ 9,3 bilhões. Nesse ano, as exportações atingiram seu melhor desempenho, com o volume total chegando a US\$ 5,6 bilhões incluindo móveis, madeira, papel e celulose. Esta cifra, de relevância significativa, representa 8% do total das exportações do País no período (SANT'ANA; FREITAS, 2004; REVISTA DA MADEIRA - REMADE, 2004).

Do total exportado, o segmento de papel e celulose mostrou-se o mais expressivo em termos de valor, tendo as vendas externas chegado a US\$ 2,83 bilhões em 2003, com um aumento da ordem de 37,7% em relação ao ano anterior. O item pasta e celulose foi o mais expressivo com US\$ 1,74 bilhões, enquanto que o de papelão totalizou US\$ 1,08 bilhão (REMADE, 2004).

Deste total, o estado do Espírito Santo contribuiu com cerca de 30%, com US\$ 848 milhões em vendas de celulose, seguido por Minas Gerais com US\$ 326 milhões. No segmento papel e papelão, São Paulo foi o estado maior exportador, seguido pelo Paraná, com valores exportados de US\$ 649 milhões e US\$ 178 milhões, respectivamente (REMADE, 2004).

Em termos de impostos, o setor contribuiu com a arrecadação de cerca de US\$ 2 bilhões, com um consumo de 300 milhões de m³ ano⁻¹ e a geração de cerca

de 3,6 milhões de empregos diretos e indiretos, resultando no sustento de quase 10 milhões de brasileiros (SANT'ANA; FREITAS, 2004; SOARES; CARVALHO, 2004).

No mercado mundial, o comércio de madeira e produtos derivados é crescente, conforme levantamento feito entre o comércio de países importadores e exportadores, sendo o valor total das exportações de cerca de US\$ 98 bilhões ano⁻¹. Deste total, 15% são originários de países em desenvolvimento (NAHUZ, 2004).

Com cerca de 6% de sua área total plantada com florestas, o correspondente a 562 mil ha, e cerca de 92% destes cultivados com espécies dos gêneros *Pinus* e *Eucalyptus*, a contribuição de Santa Catarina ao PIB nacional do setor florestal é de 7 - 8%, sendo 1,5% provenientes da atividade silvicultural e 5,6% da indústria de base florestal (INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA - ICEPA, 2004).

Dados de 2002 mostram que do total de madeira consumida pelos mais diversos setores da indústria catarinense, o setor de celulose e pastas foi responsável pelo consumo de cerca de 6,3 milhões m³; seguido pelas serrarias com 4,2; o setor de chapas e compensados com 1,5; o moveleiro com 1,2 e o setor de geração de energia com 14,8 (ICEPA, 2004). Neste período, a indústria florestal foi responsável pela geração de cerca de 87 mil empregos. Deste total, 6,2 mil foram gerados pela atividade florestal, 42,3 mil pela indústria de processamento mecânico, 12 mil pela de papel, celulose e artigos de papel e 26,4 mil pela indústria moveleira, sendo as regiões norte e oeste as mais beneficiadas, com a geração de 27,5 mil e 21,7 mil vagas, respectivamente (ICEPA, 2004).

Em 2002 o PIB de Santa Catarina foi de R\$ 42,39 bilhões, tendo o setor agrícola contribuído com 14% deste total. Do total das exportações catarinenses em 2003, cerca de 23,3% foram provenientes do setor florestal. Destes, 10,9% oriundos

do setor de madeiras e obras de madeira, 8,7% do setor moveleiro e 3,7% da produção de papel e papelão. Esses valores são quase idênticos aos exportados pelos setores de carne suína e de aves, com contribuições de 5,3% e 18,2%, respectivamente (ICEPA, 2004).

No cenário nacional, a participação da Santa Catarina nas exportações de produtos florestais no período 1995-2002 teve um incremento de cerca de 8%, passando de 10 para 18%. Considerando-se as exportações da região sul, a contribuição catarinense no período manteve-se constante com cerca de 39% (ICEPA, 2004). Comparando-se as exportações do agronegócio catarinense no período 1996-2003, o setor florestal contribuiu com R\$ 859 milhões, o de produção vegetal e derivados R\$ 351 milhões e o de produção animal e seus derivados R\$ 916 milhões (ICEPA, 2004).

O setor florestal apresenta potencial de crescimento, apesar de haver a preocupação com relação a sua sustentabilidade devido à redução de incentivos fiscais, principalmente a partir de 1987, o que levou a uma diminuição no nível de investimento na formação de florestas (JUVENAL; MATTOS, 2002). Esta diminuição é apontada como a principal responsável pelo déficit interno de cerca de 27 milhões $m^3 \text{ ano}^{-1}$ previsto para 2010. Em nível mundial, a perspectiva para o mesmo período é de um déficit de cerca de 500 milhões de $m^3 \text{ ano}^{-1}$ (REMADE, 2004).

Sabendo dos impactos negativos que um provável na oferta de madeira pode causar em nossa economia, foi criado pelo governo federal, em fevereiro de 2003, o Programa Nacional de Florestas (PNF) prevendo, para o período 2004-2007, investimentos de cerca de 1,8 bilhões de reais no setor, com meta de expandir o reflorestamento em 800 mil hectares nas pequenas e médias propriedades rurais e em 1,2 milhões hectares nos programas empresariais (MINISTÉRIO DO MEIO

AMBIENTE, 2003).

O aumento da área reflorestada deve ser encarado com cautela, pois isso pode ameaçar os escassos remanescentes de mata nativa ou as áreas de solo fértil destinadas à produção de alimentos. Assim, a utilização de solos marginais de baixa fertilidade pode representar uma alternativa para o aumento da produção, desde que métodos de cultivo sejam aplicados visando o aumento da produtividade dessas áreas ou daquelas já exploradas pelo setor florestal.

Dentre esses métodos destacam-se aqueles relacionados à melhoria da fertilidade dos solos, à seleção de clones ou variedades mais tolerantes às condições adversas do ambiente ou, ainda, métodos envolvendo o manejo da microbiota promotora do crescimento das plantas.

1.2. O USO DE FERTILIZANTES

Os solos brasileiros apresentam deficiências de vários elementos essenciais para o crescimento vegetal, a exemplo do fósforo e do potássio, demandando o uso intensivo de fertilizantes (RAIJ, 1991).

Em se tratando do fósforo, além de ser um nutriente essencial para as plantas, observa-se que grande parte das formas solúveis adicionadas ao solo são convertidas em formas não disponíveis para as plantas (McLAUGHLIN; ALSTON; MARTIN, 1988; RAIJ, 1991). As adubações potássicas, embora não apresentem problemas com processos de fixação, são perdidas em grande parte devido à lixiviação, provocando, segundo Yuan et al. (2004), deficiência principalmente nos solos das regiões tropicais e subtropicais.

Esses processos de lixiviação e de fixação de nutrientes são responsáveis

pela elevação nas quantidades requeridas de fertilizantes, contribuindo para o aumento dos custos de produção. Segundo dados da Embrapa (2005), os custos com adubação correspondem a cerca de 45% dos valores gastos com insumos e 10% do custo total na produção de mudas de *Eucalyptus grandis*.

Além de elevar os custos de produção, outro fato negativo a ser destacado em relação ao aumento na utilização de fertilizantes é a elevação nas quantidades importadas dessas fontes, com destaque para as formas potássicas e fosfatadas. Considerando o período 1995-2003, quase 87% do total de adubos potássicos foram importados. Embora sejam importados apenas 36% dos adubos fosfáticos solúveis, tem sido observado um aumento constante nesses valores desde 1999 (POTASH & PHOSPHATE INSTITUTE, 2005).

Além do impacto negativo provocado pelas importações em nossa balança comercial, a produção desses nutrientes demanda a utilização de grande quantidade de produtos de origem não renovável, bem como um alto consumo energético - em sua grande maioria derivado do petróleo. Esses impactos podem ser minimizados através de um aproveitamento mais eficiente dos nutrientes adicionados ao solo, ou pela utilização de fontes alternativas, com destaque para a utilização de pó de rochas (HARLEY; GILKES, 2000; YUAN et al., 2004).

A utilização de rochas moídas na agricultura constitui uma técnica moderna, usada nos países de agricultura evoluída como restauradora de solos e restituidora e supridora das necessidades das plantas. Contrariamente aos fertilizantes solúveis, as rochas moídas não agriem o meio ambiente e ainda preservam e estimulam a atividade da microbiota - até então negligenciada em virtude do desconhecimento de sua importância. Além disso, não acidificam nem salinizam o solo, promovem o aumento do pH, proporcionam a liberação lenta e gradual de seus nutrientes,

apresentando, desta forma, um maior efeito residual em relação aos fertilizantes solúveis, evitando a absorção de luxo, bem como a fixação e a lixiviação (MIBASA, 2005).

Essas rochas podem vir de subprodutos da exploração de pedreiras destinadas à extração de rochas ornamentais e materiais de construção, a exemplo dos granitos, sendo seus resíduos comercializados por valores irrisórios, cerca de US\$ 17,00/m³ (SILVA AMANDA, empresa Pedrita, Informação pessoal). Outra forma de obtenção seria através da exploração de pedreiras com a finalidade exclusiva de servirem como fonte de nutrientes para o crescimento vegetal, aumentando substancialmente os ganhos obtidos com a atividade, visto que o valor pago por quilograma de produtos comerciais à base de rochas como fontes de nutrientes, chega a US\$ 6,00 (NATURAL RURAL, 2005).

No Brasil, existe uma ampla variedade de reservas minerais que podem ser utilizadas como fontes de nutrientes para o crescimento das plantas. Particularmente no Estado de Santa Catarina, três áreas apresentam potencial para o fornecimento de rochas: a região dos campos de Lages; o município de Anitápolis, e a região das serras do leste catarinense.

Diversas rochas de origem alcalina como os fonolitos, carbonatitos e olivina melilitito (SCHEIBE, 1986), rochas ricas em P e K e outros elementos são encontradas na região dos campos de Lages. No município de Anitápolis, Comin-Chiaramonti et al. (2002), relatam a incidência de rochas alcalinas ricas em P e K como os carbonatitos. Apesar da ocorrência restrita, esta região mostra-se importante, principalmente devido ao potencial de utilização dessas rochas como fontes de nutrientes para o crescimento vegetal. Na região das serras do leste catarinense, ocorre a predominância de rochas graníticas de composição variável,

com abundantes xenólitos enclaves - fragmentos de rochas do teto ou das paredes da intrusão e envolvidos pelo magma (*magmatic stopping*) ou arrancados das paredes dos dutos magmáticos abaixo e trazidos dentro do magma. Geralmente pobres em P, essas rochas apresentam grandes quantidades de K, com teores variáveis de Ca e Mg. Essa região, que se estende desde o município de Joinville, no norte do Estado, até os municípios de Jaguaruna e Morro da Fumaça no sul, apresenta pedreiras de extração de britas e outros materiais.

Atualmente, já são encontrados no mercado formulações à base de rochas moídas produzidas em escala comercial, a exemplo do melhorador de solos MB-4, produzido pela empresa Mibasa, e do Rocksil, pela empresa Lia Ulmasud Ind. e Com. LTDA, ambos os insumos são utilizados na agricultura ecológica, visando prover as plantas com macro e micronutrientes, a exemplo de fósforo e potássio.

Apesar de seu potencial, a utilização da técnica da “rochagem” em substituição às formulações de adubos convencionais tem apresentado resultados contraditórios, na sua maioria negativos, como demonstrado por Bolland e Baker (2000). Em experimentos realizados a campo e em casa de vegetação, esses autores não verificaram eficiência agrônômica da utilização de pó de granito em relação ao cloreto de potássio. A campo, foi verificado que a adição de 2 t ha^{-1} de pó de granito não promoveu diferença em relação ao tratamento testemunha, e com a adição de 20 t ha^{-1} , observou-se um decréscimo na produção de cerca de 65 %. Em casa de vegetação, os menores ganhos foram obtidos quando nenhum fertilizante ou rocha foi adicionada, ou quando somente rocha foi adicionada nas concentrações de 5 t ha^{-1} e 20 t ha^{-1} .

Coutinho et al. (1991), verificando a eficiência agrônômica de fertilizantes fosfatados em condições de campo em um latossolo vermelho-escuro, verificaram

que a adição de fosfato natural de Patos de Minas não mostrou-se eficiente no fornecimento de fósforo. Porém, Prochnow et al. (2004), em experimento em casa de vegetação, comparando a eficiência de fosfatos produzidos através do fosfato natural de Gafsa, verificaram que a adição somente de apatita ao solo, sem o enriquecimento com fosfato solúvel, apresentou baixa eficiência agrônômica, alcançando resultados máximos de 30% dos obtidos com o superfosfato simples.

Tais contradições parecem residir na baixa solubilidade desses materiais, o que requer o desenvolvimento de processos biotecnológicos que possam proporcionar uma maior disponibilização desses nutrientes. Dentre esses processos, destaca-se o uso de microrganismos do solo capazes de promover uma maior absorção de nutrientes quando associados às plantas. Nesse grupo encontram-se os fungos ectomicorrízicos. Estudos recentes enfatizam a importância desses microrganismos na solubilização de nutrientes contidos em rochas (WALLANDER; WICKMAN; JACKS, 1997; WALLANDER; WICKMAN, 1999; WALLANDER, 2000a; LANDEWEERT et al., 2001; YUAN et al., 2004; LIU; LOGANATHAN; HEDLEY, 2005).

Desta forma, um dos setores que mais poderia se beneficiar com esta prática seria o setor florestal, visto que suas principais espécies, notadamente as dos gêneros *Pinus* e *Eucalyptus*, formam associação com fungos ectomicorrízicos. A exploração dessa simbiose para a solubilização de nutrientes de rochas seria de particular importância para o setor, uma vez que este utiliza quantidades excessivas de fertilizantes para manter a qualidade das mudas a fim de assegurar níveis elevados de produtividade.

1.3. O EUCALIPTO

O gênero *Eucalyptus*, pertencente à família Myrtaceae, ordem Myrtiflorae, classe Dicotyledonae, divisão Angiospermae, apresenta ocorrência generalizada na Austrália e na região indo-malaica. As espécies do gênero distribuem-se originalmente entre as latitudes de 7°N e 43°39'S, com a grande maioria delas sendo encontrada na Austrália continental e na Tasmânia.

São plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, distinguindo-se por apresentar folhas alternas e frutos capsulares, embora em algumas espécies observem-se folhas opostas. As flores dispostas geralmente em inflorescências, podem ser umbeladas, panículas ou corimbos. O fruto é uma cápsula deiscente composta de 3 a 6 valvas apicais, chamada diplotegia. As sementes variam em tamanho, cor e forma, havendo sementes com menos de 1 mm, até mais de 2 cm de comprimento, de cor amarela até preta e de forma esférica, cúbica ou subulada, com superfície lisa reticulada ou alveolada (JOLY, 1977; MARCHIORI; SOBRAL, 1997).

Com mais de 600 espécies e variedades, os eucaliptos habitam desde florestas tropicais pluviais, áreas com precipitação estival (zona tropical), zonas subtropicais de precipitação uniforme, áreas de clima mediterrâneo - onde a precipitação é restrita ao inverno - bem como zonas áridas com precipitação inferior a 300 mm anuais, apresentando, desta forma, extraordinária importância silvicultural (LIMA, 1993).

A difusão do eucalipto teve início em 1804, tendo sido levado da Austrália pelo jardineiro-botânico do jardim das plantas de Paris, Antônio Guichenot. Em meados do século XIX, já apresentava ampla distribuição mundial, apesar de ter pouca ou nenhuma importância na América do Sul (UNGARETTI, 1995).

No Brasil, a primeira introdução da essência ocorreu no Estado do Rio Grande do Sul, no ano de 1868 (LIMA, 1993). Segundo Marchiori e Sobral (1997), os eucaliptos são atualmente as essências florestais mais cultivadas no Brasil e no mundo, sendo a sua madeira utilizada para a produção de papel e celulose, lenha, carvão, chapas duras, moirões, postes e construção civil em geral. Da área total plantada com espécies florestais, cerca de 6 milhões de hectares, 65% são ocupados com espécies pertencentes a esse gênero (BRACELPA, 2005).

A introdução de espécies do gênero em nosso país tem visado, principalmente, atender a demanda crescente por parte das indústrias de papel e celulose, que adotando técnicas silviculturais intensivas, têm alcançado ganhos significativos de produção, não raramente com produtividade superior a $60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (LIMA, 1993).

A espécie *Eucalyptus dunnii* Maiden, originária de regiões com latitudes variando entre 28° a $30^\circ 15' \text{ S}$, compreendendo pequenas áreas no nordeste do Estado de Nova Gales do Sul e sudoeste do Estado de Queensland, na Austrália, destaca-se pela qualidade da sua madeira e índice de crescimento, apresentando densidade, em árvores de sete anos de idade, de cerca de $0,46 \text{ g cm}^{-3}$ (EMBRAPA, 1986; 1988). Sua região de origem apresenta características climáticas semelhantes às principais áreas de plantio de Santa Catarina, com temperatura média de 28° C nos meses mais quentes, variando entre 0 e 3° C nos mais frios, com a ocorrência de geadas e um precipitação média anual de 1000 a 1750 mm ano^{-1} (EMBRAPA, 1986; 1988).

O favorecimento do uso de espécies de *Eucalyptus* em reflorestamentos deve-se, dentre outros fatores, à simbiose entre fungos do solo e suas raízes. Essa simbiose, conhecida por ectomicorriza, contribui para uma melhor absorção de

nutrientes, como o fósforo e o potássio, com reflexo no crescimento e desenvolvimento das plantas (CASTELLANO, 1990; WALLANDER, 2000a).

1.4. MICORRIZAS

A relação de simbiose entre certos fungos do solo e raízes de plantas, descrita primeiramente por Frank (1885), é denominada micorriza. Juntamente com os líquens, é a forma mais antiga de simbiose envolvendo organismos heterotróficos e autotróficos, onde ocorre a formação de estruturas especializadas (OLIVEIRA; GIACHINI, 1999).

Com base em características do fungo e da espécie vegetal a este associada, as micorrizas são classificadas em arbutóides, monotropóides, ericóides, orquidóides, ectendomicorrizas, vesículo-arbusculares (MVA) e ectomicorrizas (SMITH; READ, 1997).

As micorrizas arbutóides e monotropóides são encontradas em gêneros da ordem Ericales como *Arbutos*, *Pyrola*, *Sarcodes* e *Monotropa*, apresentando características tanto de ecto quanto de endomicorrizas. Nas arbutóides, observa-se o desenvolvimento intracelular das hifas em forma de novelo, enquanto que nas micorrizas monotropóides, observa-se o desenvolvimento de uma estrutura, formada pelo micélio fúngico equivalente a um haustório. Essa estrutura é chamada de *peg* ou cavilha, penetrando nas células da epiderme. As micorrizas deste tipo ocorrem em plantas da família *Monotropaceae*, um grupo de plantas aclorofiladas que crescem em florestas de coníferas, onde suas sementes dependem do suprimento de compostos orgânicos fornecidos pelo fungo para a sua germinação (SMITH; READ, 1997).

As micorrizas ericóides são encontradas em membros da família Ericaceae, sendo formadas por fungos do filo Ascomycota, que produzem no interior das raízes um emaranhado de hifas. Dentre as suas funções, destaca-se a proteção da planta hospedeira contra o excesso de metais pesados presente no solo (SMITH; READ, 1997; MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Formada por fungos que colonizam intracelularmente as raízes, formando novelos ou “pelotões” de hifas, as micorrizas orquidóides são formadas por espécies do gênero *Rhizoctonia* e plantas da família das Orchidaceae, incluindo espécies aclorofiladas. Neste último caso, o fungo transfere carbono para a planta via hidrólise de carboidratos presentes no solo ou obtidos de outra planta, através da ligação das hifas. Quando a planta desenvolve a capacidade fotossintetizadora, este processo é invertido (SMITH; READ, 1997).

As ectendomicorrizas, formadas por fungos dos filos Basidiomycota e Ascomycota, apresentam muitas das características das ectomicorrizas. Sua ocorrência dá-se principalmente entre espécies de coníferas, como o gênero *Pinus*, e fungos pertencentes ao filo Ascomycota, apresentando como representante da ordem Pezizales o gênero *Wilcoxina*. Neste, a maioria das estirpes é classificada em duas espécies, *Wilcoxina mikolae* var. *mikolae*, *W. mikolae* var. *tetraspora* e *Wilcoxina rehmi*. *Wilcoxina mikolae*, encontrada em solos minerais e de viveiros, produz clamidósporos, o que não ocorre com *Wilcoxina rehmi*, encontrada predominantemente em solos turfosos. Um outro membro desta ordem, *Sphaerosporella brunnea*, forma ectendomicorrizas com *Pinus contorta*. *Phialophora finlandia* e *Chloridium paucisporum*, pertencentes à ordem Leotiales, também formam ectendomicorrizas (SMITH; READ, 1997; PETERSON; MASSICOTE; MELVILLE, 2004).

As micorrizas vesículo-arbusculares são o tipo mais comum de associação, com evidências fósseis indicando seu surgimento entre 410 e 360 milhões de anos atrás, período este coincidente com o aparecimento das plantas terrestres (SÖDERSTRÖM, 1991; SMITH; READ, 1997).

As micorrizas vesículo-arbusculares são formadas por fungos de micélio asseptado, pertencentes, segundo Schüßler, Schwarzott e Walker (2001), à ordem Glomerales, filo Glomeromycota. Com base em características morfológicas dos esporos sexuais, parâmetros bioquímicos e métodos moleculares, são conhecidos oito gêneros: *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus*, *Paraglomus*, *Sclerocystis*, *Scutellospora*, *Archaeospora* e *Entrophospora*. Esses fungos formam simbiose com briófitas, pteridófitas, gimnospermas e angiospermas, produzindo dentro das células do córtex, estruturas semelhantes a haustórios, chamadas arbusculos. Sua ocorrência é muito comum em todo o mundo, sendo sua maior incidência em regiões tropicais (SMITH; READ, 1997).

Embora a associação seja encontrada em uma ampla variedade de espécies vegetais, apenas um grupo reduzido de espécies fúngicas, cerca de 150, participam dela, sendo classificadas com base na estrutura e desenvolvimento da parede dos esporos (SMITH; READ, 1997).

Vestígios fósseis e estudos moleculares indicam o surgimento da associação ectomicorrízica no período Cretáceo, há aproximadamente 130 milhões de anos, possivelmente como uma estratégia de sobrevivência para os simbiosomas em ambientes de baixa fertilidade, seca prolongada ou doenças, dentre outras condições adversas (OLIVEIRA; GIACHINI, 1999).

Encontradas em cerca de 10% das plantas cultivadas comercialmente, destacando-se dentre estas as essências florestais e, principalmente, as espécies

dos gêneros *Quercus*, *Fagus*, *Pinus* e *Eucalyptus*, as ectomicorrizas são formadas por um grande número de espécies de fungos, cerca de seis mil, pertencentes, principalmente, aos filos Basidiomycota e Ascomycota. Cerca de 75% desses fungos apresentam hábito epígeo, e o restante hipógeo (MARX; CORDELL, 1989; MARX; MAUL; CORDELL, 1992; GOEDE; KUYPER; BRUSSAARD, 2001).

As ectomicorrizas são caracterizadas pela formação de uma rede intercelular de hifas nas regiões cortical e epidérmica da raiz, chamada de rede de Hartig, de um manto de hifas fúngicas ao redor da raiz e pelo crescimento de hifas externas à raiz, formando conexões entre o solo, os corpos de frutificação dos fungos, e as plantas.

O manto fúngico é caracterizado por uma massa de hifas, variável em estrutura e espessura, formando um falso tecido parenquimatoso externamente à raiz, com uma espessura variável, em geral entre 20-40 μm . O manto representa entre 20 a 40% do volume total da micorriza, correspondendo a cerca de 35 a 40% de seu peso. Nessas células são armazenados vários tipos de nutrientes, dentre eles nitrogênio, fósforo e potássio.

A rede de Hartig corresponde à região em que as hifas ocupam, intercelularmente, camadas das células do córtex, sem, no entanto, alcançarem a zona endodérmica. É a região de interface entre o fungo e a raiz, onde, acredita-se, se estabelecem as trocas entre os simbioses.

O micélio externo, um dos responsáveis pelo aumento na área de solo explorada pela raiz, apresenta várias características, podendo ser esparso ou denso, e incluir hifas isoladas ou em feixes, formando as rizomorfos, escleródios e frutificações (CHILVERS, 1968; BELLEI; CARVALHO, 1992; GOODMAN et al., 1996; SMITH; READ, 1997).

A associação ectomicorrízica traz benefícios tanto para a planta quanto para o

fungo a ela associado (AROCENA; GLOWA, 2000; WALANDER, 2000a; TRAPPE, 1981). O fungo beneficia-se do fornecimento de carboidratos, provenientes do processo fotossintético, necessário aos processos de formação e manutenção das estruturas micorrízicas (MARSCHNER; DELL, 1994).

A planta é beneficiada pelo aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos, como o ataque de microrganismos e patógenos do solo (DESSUREAULT; SAMSON; MORIN, 1999; GOEDE; KUYPER; BRUSSAARD, 2001), a seca, através da maior capacidade de absorção de água, proporcionada pelo aumento da área de exploração das raízes (PIGOTT, 1992; MARX; CORDELL, 1989), a condições extremas de pH (BRUNNER, 2001), e a toxicidade a metais pesados (GODBOLD; WINTER; JENTSCHKE, 1997).

Os benefícios nutricionais promovidos pela associação resultam da maior absorção de nutrientes orgânicos e inorgânicos presentes no solo, como o nitrogênio, fósforo e potássio (SMITH; READ, 1997; WALLANDER, 2000a, 2000b; MAHMOOD et al., 2001). Esse efeito é decorrente tanto do aumento na área de absorção proporcionada pelas hifas, como através da disponibilização de nutrientes (RYGIEWICZ ; BLEDSOE, 1984; SMITH; READ, 1997; OLSSON; WALLANDER, 1998; BREEMEN; LUNDSTRÖM; JONGMANS, 2000; WALLANDER, 2000a, 2000b; MAHMOOD et al., 2001).

1.5. SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES POR FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS

A solubilização de nutrientes pelos fungos ectomicorrízicos pode ser efetivada por diferentes mecanismos, com características distintas, e atividade dependente do tipo de microrganismo, das condições físicas, químicas ou nutricionais do meio, bem como do material fonte do nutriente.

A produção de enzimas fosfatases é responsável pela mineralização do fósforo contido na matéria orgânica do solo. O fósforo orgânico é uma importante fonte desse nutriente às plantas, sendo liberado através da catálise da hidrólise de estéres de fosfato (SMITH; READ, 1997; KOIDE; KABIR, 2000). Tanto os microrganismos quanto as plantas são responsáveis pela produção de fosfatases ácidas, enquanto que as fosfatases alcalinas são produzidas predominantemente por microrganismos, sendo suas atividades influenciadas pelos diferentes atributos do solo (LIU; LOGANATHAN; HEDLEY, 2005; SMITH; READ, 1997).

A produção de ácidos tem sido citada como o principal mecanismo de solubilização de nutrientes. Ácidos inorgânicos, a exemplo do H_2CO_3 , formados a partir do CO_2 liberado no solo resultante da respiração dos microrganismos (TSAI; BARAIBAR; ROMANI, 1992; JONES; DURALL; TINKER, 1998), são responsáveis pela solubilização, dentre outros, de compostos contendo fósforo e potássio (ALEXANDER, 1980).

A acidificação do meio pode ser resultante do efluxo de íons H^+ pelos microrganismos como forma de manutenção do equilíbrio iônico devido ao consumo de prótons, a exemplo do NH_4^+ (LAPEYRIE; RANGER; VAIRELLES, 1991; WANG et al., 2000; HOFFLAND et al., 2004). Os íons H^+ podem atuar na solubilização de fósforo e potássio através da dissolução dos compostos, como as apatitas,

demonstrado na seguinte reação proposta por Khasawneh e Doll (1978):



O potássio existente entre camadas de minerais, como as micas, pode ser disponibilizado ainda, pela sua substituição por íons hidrogênio. Essa substituição deve-se à diferença entre os diâmetros dos átomos de K e H, com $2,03 \times 10^{-10}\text{m}$ e $0,32 \times 10^{-10}\text{m}$, respectivamente (YUAN et al., 2004).

Ácidos orgânicos também são fontes de H^+ para a solução. Eles são classificados em ácidos de alto e de baixo peso molecular. Os de baixo peso molecular como os ácidos succínico, fumárico, glucônico, itacônico, láctico, málico, micofenólico, oxálico e ácido cítrico, são oriundos do ciclo de Krebs. Eles são excretados por microrganismos do solo, como os fungos ectomicorrízicos, e encontrados na rizosfera (HOFFLAND; FINDENEGG; NELEMANS, 1989; BIGELIS; ARORA, 1992; HOFFLAND, 1992; GADD, 1999), sendo responsáveis pela solubilização de potássio e fósforo diretamente de fontes insolúveis, com destaque para as rochas. Sua excreção é estimulada pela deficiência de fósforo no meio devido ao incremento na permeabilidade das membranas (HOFFLAND; FINDENEGG; NELEMANS, 1989; WANG et al., 2000).

Os ácidos orgânicos de alto peso molecular, como as substâncias húmicas, são menos efetivos na dissolução de minerais que os de baixo peso molecular, sendo os segundos, produtos secundários no metabolismo de compostos de alto peso molecular, como carboidratos, lipídeos e peptídeos.

Os ácidos orgânicos podem atuar de forma direta, favorecendo a solubilidade de elementos como fósforo e potássio através do efeito de pH, como demonstrado

acima, bem como através de processos de quelação e complexação, no qual cátions metálicos são incorporados às moléculas de compostos orgânicos. Dos ácidos orgânicos, o cítrico e o málico são quelantes fortes de metais trivalentes como Al^{3+} e Fe^{3+} . Já o ácido oxálico, com uma maior força ácida, forma complexo com K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu, Al e Fe (JONES; DURALL; TINKER, 1998; GADD, 1999).

Outros compostos responsáveis pela disponibilização de nutrientes através do processo de quelação são as substâncias conhecidas como sideróforos. Estas são sítios de complexação catecólicas contendo pelo menos um ácido hidroxâmico, um catecol e/ou um ácido α -hidroxicarboxílico com sítios ligantes, sendo produzidos por muitas espécies de fungos micorrízicos (HASEELWANDTER, 1995; BENITE; MACHADO, 2002). Apresentam-se eficientes na dissolução de minerais, como as biotitas, através da liberação do ferro presente (WATTEAU; BERTHELIN, 1994).

Outro mecanismo de solubilização está relacionado com o consumo dos constituintes do composto ou do mineral presente na solução. Como demonstrado na reação apresentada anteriormente, proposta por Khasawneh e Doll (1978), o consumo do cálcio resultante do produto de solubilidade do fosfato, é um dos fatores responsáveis pelo deslocamento do equilíbrio da solução com conseqüente solubilização e liberação de fosfato (SILVA FILHO; VIDOR, 2001). O Ca^{2+} liberado pode ser imobilizado pelos microrganismos e plantas; complexado por ácidos orgânicos ou mesmo quelado, formando, por exemplo, oxalato ou acetato de cálcio. O mesmo raciocínio se aplica ao consumo de qualquer outro constituinte, como $\text{H}_2\text{PO}_4^{3-}$, na dissolução das apatitas ou o K de micas (WANG et al., 2000).

O papel dos fungos ectomicorrízicos na solubilização de minerais contidos em rochas foi constatado por diferentes autores, a exemplo de Gomes, Oliveira e Silva Filho (1992) e Van Breemen et al. (2000). Gomes, Oliveira e Silva Filho (1992),

avaliando o potencial de isolados de fungos ectomicorrízicos de solubilizar fosfatos de rocha em meio de cultura, verificaram o efeito positivo da maioria dos isolados testados, com destaque para os de *Pisolithus tinctorius*. Van Breemen et al. (2000), em estudos para a determinação da solubilização de minerais sob florestas de coníferas, verificaram a presença de hifas associadas a esses minerais, bem como a presença de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como o ácido cítrico e fumarato.

Estas características demonstram o potencial de utilização de fungos ectomicorrízicos na solubilização de nutrientes contidos em rochas, visto que a adubação com essas fontes, associada à inoculação com microrganismos, tem propiciado resultados semelhantes e, em muitos casos, superiores aos obtidos com fontes convencionais de adubação.

Wallander e Wickman (1999), comparando o efeito da inoculação de isolados de *Paxillus involutus* e *Suillus variegatus* na solubilização de potássio de biotita e microclínio, verificaram que a aplicação de microclínio como fonte de potássio, conjuntamente com a inoculação de *Paxillus involutus*, estimulou o crescimento de plântulas de *Pinus sylvestris* em relação ao tratamento não adubado ou inoculado com *Suillus variegatus*. Já em relação à biotita, os autores verificaram um aumento no conteúdo de potássio foliar com a inoculação de *Suillus variegatus*.

Yuan et al. (2004), também verificaram o efeito positivo da inoculação de sementes de *Eucalyptus globulus* com isolados de *Cenococcum geophilum*, *Pisolithus microcarpus* e *Pisolithus* sp., na solubilização de potássio a partir de vermiculita e flogopita.

Wallander; Wickman e Jacks (1997) e Wallander (2000a), verificaram que plântulas de *Pinus sylvestris* colonizadas por isolados de fungos ectomicorrízicos,

Suillus variegatus e *Paxillus involutus*, apresentaram altas concentrações e conteúdos de fósforo total, se comparadas às plântulas não colonizadas, indicando a ação desses fungos na solubilização do fósforo de apatita.

Para que seja viável a utilização comercial de fungos ectomicorrízicos na produção vegetal, juntamente com a utilização de fontes alternativas de nutrientes, é necessário selecionar os fungos mais eficientes na solubilização de nutrientes a partir dessas fontes e o desenvolvimento e aprimoramento da tecnologia de produção e utilização de inoculantes (MARX; RUEHLE; CORDELL, 1991). Nesse contexto, este trabalho inicia-se com a seleção de rochas e fungos ectomicorrízicos eficientes na solubilização de nutrientes e promoção do crescimento vegetal.

CAPÍTULO 2

SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES CONTIDOS EM ROCHAS POR ISOLADOS DE FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS EM MEIO DE CULTURA GEL

2.1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a utilização intensiva de certos insumos agrícolas pelo homem, como é o caso dos fertilizantes solúveis, tem contribuído para o aumento nos custos de produção e para impactos no meio ambiente. Até o presente, a importância dos microrganismos para a produção agrícola tem sido negligenciada. (HARVEY, 1991). Exemplos desses microrganismos benéficos às plantas são representados pelos fungos micorrízicos, que desempenham um papel fundamental nas complexas relações entre plantas e o ambiente ao seu redor

Nos últimos anos, as evidências de um déficit na produção madeireira tem incitado a busca por tecnologias que promovam o aumento da produção, com um mínimo de impacto sobre as áreas de florestas nativas e aquelas destinadas à produção de alimentos. A utilização de rochas em substituição à adubação solúvel constitui-se em uma técnica moderna, não agressiva ao meio ambiente e estimuladora da microbiota do solo (MIBASA, 2005), tendo como fator limitante para a sua utilização, a baixa disponibilidade dos elementos nelas contidos, a exemplo do fósforo e potássio.

Vários autores, a exemplo de Wallander, Wickman e Jacks (1997); Wallander e Wickman (1999); Wallander (2000a); Landeweert et al. (2001); Yuan et al. (2004) e Liu, Loganathan e Hedley (2005), têm destacado o aumento na solubilidade dessas

fontes através da utilização de isolados de fungos ectomicorrízicos. De acordo com Paris, Botton e Lapeyrie (1996), Wallander e Wickman (1999) e Yuan et al. (2004), esses fungos apresentam diferenças no potencial de solubilização de nutrientes contidos em rochas, sendo a solubilidade destas afetada, dentre outros fatores, pelo tipo de mineral presente em sua composição (BIGARELLA; BECKER; DOS SANTOS, 1994; POPP, 1987; ANDRADE et al., 2002).

Assim, é essencial que os fungos sejam testados quanto a seu potencial de solubilização de nutrientes a partir das rochas disponíveis na região. Segundo Trappe (1977), o primeiro e mais importante passo em programas de inoculação controlada é o processo de seleção dos microrganismos. Esse processo deve levar em conta o grande número de diferenças ecológicas e fisiológicas apresentadas pelos microrganismos, podendo-se utilizar para isto o maior número de isolados possível, de diferentes hospedeiros e regiões geográficas (MARX; CORDELL, 1989; MARX, 1991).

O laboratório de ectomicorrizas, da Universidade Federal de Santa Catarina, mantém em meio de cultura MNM (Melin-Norkrans modificado) - Marx, (1969), uma ampla variedade de isolados de fungos ectomicorrízicos pertencentes a diversos gêneros e espécies, isolados de diferentes hospedeiros no Brasil e no mundo.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo selecionar isolados de fungos ectomicorrízicos com base na capacidade de solubilizar fósforo e potássio contidos em rochas disponíveis no Estado de Santa Catarina, bem como a seleção dessas rochas como fontes de nutrientes na substituição total ou parcial das adubações solúveis, para o crescimento de plantas de *Eucalyptus dunnii*. O estudo foi conduzido em condições controladas, em meio de cultura GEL líquido (Glicose-Extrato de Levedura) [SYLVESTER-BRADLEY et al. (1982), modificado por SILVA

FILHO (1998)], nas instalações da divisão de Microbiologia do Solo do Departamento de Microbiologia e Pasitologia, da Universidade Federal de Santa Catarina (MIP/CCB/UFSC).

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 25 isolados de fungos ectomicorrízicos provenientes da coleção do Laboratório de Ectomicorrizas, da Divisão de Microbiologia do Solo do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, obtidos de plantações de eucalipto no Brasil, França, Uruguai e Austrália. Os isolados brasileiros são provenientes dos estados de Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais (Tabela 2.1).

Os isolados foram avaliados em meio de cultura GEL (SILVESTER-BRADLEY et al., 1982) modificado (anexo A), suplementado com diferentes tipos de rochas (Tabela 2.2 e 2.3), na proporção de 10 g L⁻¹ de meio. As rochas tinham sido previamente moídas em moinho de bola e peneiradas em malha de 0,053 mm de abertura.

Tabela 2.1. Identificação e origem dos isolados de fungos ectomicorrízicos da coleção da UFSC.

Código	Espécie	Fonte	Hospedeiro
INRA-Cou	<i>Paxillus involutus</i>	Cousserges – França	Eucalyptus dalrympleana
UFSC-Pt22	<i>Pisolithus</i> sp.	Três Barras – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt23	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt24	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt25	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt26	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt27	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt28	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt43	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Sc57	<i>Scleroderma</i> sp.	Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
SA 9	<i>Scleroderma flavidum</i>	Australia	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>
CSIRO-H1234	<i>Pisolithus</i> sp.	NorthCliffe, Western Australia	<i>Eucalyptus globulus</i>
UFSC-Hg93	<i>Hysterangium gardneri</i>	São João do Triunfo – PR	<i>Eucalyptus dunnii</i>
UFSC-Ch98	<i>Chondrogaster angustisporus</i>	Três Barras – SC	<i>Eucalyptus dunnii</i>
UFSC-Pt99	<i>Pisolithus tinctorius</i>	Trinta y Três – Uruguai	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Pt116	<i>Pisolithus microcarpus</i>	Três Barras – SC	<i>Eucalyptus dunnii</i>
UFSC-Pt132	<i>Pisolithus microcarpus</i>	Três Barras – SC	<i>Eucalyptus dunnii</i>
UFSC-Pt145	<i>Pisolithus</i> sp.	UFSC – Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> sp.
UFSC-Sc148	<i>Scleroderma</i> sp.	Correia Pinto – SC	<i>Eucalyptus dunnii</i>
UFSC-Ch163	<i>Chondrogaster angustisporus</i>	Correia Pinto – SC	<i>Eucalyptus dunnii</i>
UFSC-Pt183	<i>Pisolithus</i> sp.	Florianópolis – SC	<i>Eucalyptus</i> spp.
UFSC-Pt186	<i>Pisolithus microcarpus</i>	Lavras – MG	<i>Eucalyptus</i> spp.
UFSC-Pt187	<i>Pisolithus microcarpus</i>	Lavras – MG	<i>Eucalyptus</i> spp.
UFSC-Pt188	<i>Pisolithus microcarpus</i>	Lavras – MG	<i>Eucalyptus</i> spp.
UFSC-Pt189	<i>Pisolithus microcarpus</i>	Lavras – MG	<i>Eucalyptus</i> spp.

Tabela 2.2 - Composição, origem e nomenclatura das rochas utilizadas.

Rocha	Sigla	Origem
Granito A da planície do Campeche	PCA	Florianópolis-SC
Granito B da planície do Campeche	PCB	Florianópolis-SC
Flogopita Olivina Melilitito	FLO	Palmeira-SC
Brecha Alcalina	BA	Rio Verde-GO
Fonolito	FON	Lages-SC
Calcário de Iratí	CI	Lages-SC
Granito da Saibrita	SB	Palhoça-SC
Carbonatito	CAR	Catalão-GO
Arenito	A	Rio Verde-GO
Pó da Pedreira Saibrita	PSb	Palhoça-SC

Tabela 2.3 – Porcentagem de Fósforo e Potássio das rochas utilizadas.

Rocha	% Fósforo	% Potássio
Granito A da planície do Campeche	0,01	5,2
Granito B da planície do Campeche	0,02	4,8
Flogopita Olivina Melilitito	0,30	3,7
Brecha Alcalina	0,29	2,0
Fonolito	0,01	5,4
Calcário de Iratí	0,08	0,9
Granito da Saibrita	0,01	4,3
Carbonatito	0,68	2,0
Arenito	0,12	0,7
Pó da Pedreira Saibrita	0,05	4,4

Os isolados foram mantidos em meio de cultura GEL, em placas de Petri (9 cm de diâmetro), 15 mL por placa, incubados a 25°C ± 1, em estufa tipo B.O.D. na ausência de luz, durante 30 dias. Após este período, discos de 8 mm de diâmetro foram retirados da extremidade das colônias e transferidos para meio de cultura de mesma composição, também em placas de Petri, e incubados sob as mesmas condições. Uma vez confirmada a viabilidade, um disco de cada isolado foi transferido para 50 mL de meio de cultura GEL líquido modificado (anexo A), em frascos âmbar com volume de 150 mL, suplementado com os diferentes tipos de rochas, incubando-se a 25°C ± 1 durante 25 dias, em condições estáticas.

Foram estabelecidos três tratamentos testemunha: (1) meio com fungos, sem

rochas; (2) meio sem fungos, com rochas e (3) meio sem fungos e sem rochas. Utilizou-se um delineamento experimental completamente casualizado, com um arranjo fatorial 26 x 11, com três repetições.

Após o período de incubação, o micélio foi separado do meio e lavado três vezes em água destilada esterilizada para a retirada de resíduos de meio de cultura e das rochas que pudessem interferir nos resultados das análises. Em seguida, o micélio foi secado em estufa de ventilação forçada, à temperatura de $75^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 3 dias, ou até peso constante, para a determinação do peso da matéria seca. Para a determinação do teor de fósforo e potássio no micélio, adotou-se o procedimento descrito por Tedesco et al. (1995).

Após a retirada do micélio o meio de cultura foi centrifugado a 2.200g por 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi separado, armazenado em frascos com tampa e mantido a $4^{\circ}\text{C} \pm 1$, para a posterior determinação dos teores de fósforo e potássio solúveis (TEDESCO et al., 1995).

A determinação dos teores de fósforo e potássio no micélio foi feita após a digestão ácida em bloco digestor. Para tal, fez-se uma pré-digestão a frio em tubos de ensaio pela adição ao micélio de 1 mL de H_2O_2 (30%) e 2 mL de H_2SO_4 concentrado, seguindo-se da adição de 0,7g de mistura de digestão (100g de Na_2SO_4 , 10g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 1g de selênio). Após este procedimento, os tubos foram colocados em bloco digestor em capela de exaustão, a uma temperatura de $160\text{-}180^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante uma hora, até a completa evaporação da água. Após esta etapa, a temperatura foi elevada a $340\text{-}360^{\circ}\text{C} \pm 1$, sendo mantida por uma hora ou até que a mistura atingisse uma coloração esverdeada. Em seguida, os tubos foram retirados do bloco e deixados esfriar à temperatura ambiente. O volume dos tubos foi completado com água destilada para 50 mL sendo, em seguida, homogeneizado.

Para a determinação dos teores de fósforo, alíquotas de 1 mL do extrato digerido foram transferidas para copos plásticos descartáveis onde adicionaram-se 2 mL de água destilada, 3 mL de solução de molibdato de amônio (Anexo B) e três gotas de solução ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico (Anexo C). Em seguida, os frascos foram deixados em repouso por 15 ± 1 minutos, seguindo-se a determinação da absorbância a 660 nm em espectrofotômetro da marca Jenway[®], modelo 6100. Os valores foram transformados em fósforo no tecido (μg), através de equações de regressão obtidas a partir de uma curva padrão.

Para a determinação dos teores de potássio do micélio, alíquotas de 1 mL do extrato digerido foram transferidas para copos plásticos descartáveis, adicionando-se, em seguida, 4 mL de água destilada. Foi feita, então, a determinação da % de emissão de luz em fotômetro de chama da marca Corning[®], modelo 400. Os valores foram transformados em potássio (μg), através de equações de regressão, obtidas a partir de uma curva padrão.

As curvas padrão de fósforo e potássio foram obtidas através da digestão de alíquotas de 0,0 - 0,5 - 1,0 - 2,0 - 3,5 e 5,0 mL de uma solução padrão (1,318g de KH_2PO_4 e 3,472g de KCl, secos a $105^\circ\text{C} \pm 1$ por 2h, dissolvidos em 1 L de água destilada). Em seguida, utilizou-se o mesmo procedimento adotado para a extração para o micélio.

A determinação dos teores de fósforo no meio de cultura foi feita seguindo-se o procedimento descrito acima, sem realizar-se a digestão. Para a determinação dos teores de potássio presente no meio, 1 mL de meio de cultura centrifugado foi transferido para copos descartáveis, diluído e homogeneizado em 10 mL de água destilada, sendo, em seguida, feita a determinação da % de emissão de luz em fotômetro de chama da marca Corning[®], modelo 400. Os valores obtidos foram

transformados em fósforo e potássio presentes no meio de cultura ($\mu\text{g L}^{-1}$), sendo, juntamente com os valores de fósforo e potássio presentes no micélio (μg), transformados em valores totais (μg).

Para a obtenção das quantidades de P e K solubilizadas presentes no micélio, no meio de cultura e o total, foram subtraídos, respectivamente de cada tratamento, o valor obtido na testemunha sem rocha e sem inoculação (meio de cultura); o valor de sua respectiva testemunha da rocha (tratamento com rocha sem inoculação) subtraído do valor da testemunha (tratamento sem rocha e sem inoculação) e o valor da respectiva testemunha inoculada (tratamento inoculado sem a rocha), subtraído do valor da testemunha (tratamento sem rocha e sem inoculação); conforme a fórmula abaixo usada para as quantidades de P solubilizadas presente no meio.

$$\text{PSAA} = \text{PMAA} - \text{PMC} - (\text{PMA0} - \text{PMC}) - (\text{PM0A} - \text{PMC})$$

Onde:

PSAA = Teor de fósforo solubilizado no meio de cultura pelo isolado A na presença da rocha A.

PMAA = Teor de fósforo no meio de cultura do isolado A na presença da rocha A.

PMC = Teor de fósforo no meio de cultura não inoculado sem rocha.

PMA0 = Teor de fósforo no meio de cultura do isolado A sem rocha.

PM0A = Teor de fósforo no meio de cultura com a rocha A sem inoculação.

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) com o auxílio do programa STATGRAPHICS *Plus* (Manugistics®) para Windows®.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados apresentados nas tabelas 2.4 a 2.10 demonstram efeitos dos isolados de fungos ectomicorrízicos e das rochas na produção de matéria seca (micélio) e nas quantidades de potássio e de fósforo solubilizadas. Houve, em muitos casos, uma interação significativa entre os dois fatores.

2.3.1. Crescimento de isolados de fungos ectomicorrízicos

Considerando-se as médias gerais obtidas com as rochas, não foram observados efeitos positivos de nenhuma delas sobre a produção de matéria seca dos fungos. Os valores obtidos com utilização das rochas PCA (121 mg/50mL), brecha alcalina (122 mg/50mL) e SB (118 mg/50mL) não diferiram daquele obtido no tratamento testemunha, sem rochas (125 mg/50mL). Nos demais tratamentos de rochas, houve uma diminuição do crescimento dos isolados, em relação à testemunha. Essa redução chegou a 32% nos tratamentos com flogopita olivina melilito, 24% com arenito, 22% com fonolito, 17% com carbonatito e, em média, em 10% com as demais rochas (Tabela 2.4).

Houve diferenças entre os isolados quanto a este parâmetro. Os isolados UFSC-Pt186 e UFSC-Pt145, oriundos de Santa Catarina, e o isolado UFSC-Pt99, oriundo do Uruguai, destacaram-se com a maior produção de matéria seca, com 169, 167 e 164 mg/50mL de micélio, respectivamente. Em segundo lugar destacaram-se os isolados CSIRO-H1234, da Austrália, UFSC-Pt28 e UFSC-Pt27, também de Santa Catarina, com 150, 145 e 144 mg/50mL, respectivamente. O menor crescimento foi observado para os isolados UFSC-Ch98, UFSC-Sc148 e

UFSC-Pt188, com 8%, 11% e 33% do produzido pelo isolado com maior destaque, UFSC-Pt186 (169 mg/50mL)

Comparando-se as combinações entre os isolados e as rochas, verificou-se que a brecha alcalina foi a rocha que proporcionou o maior número de interações positivas. Essa rocha proporcionou maior crescimento para cinco dos isolados: UFSC-Pt24, UFSC-Pt27, CSIRO-H1234, UFSC-Ch98 e UFSC-Pt145, destacando-se, ainda, em combinação com os isolados UFSC-Pt186, UFSC-Pt99, UFSC-Pt116, UFSC-Ch163, dentre outros. Além da brecha alcalina, destacou-se o pó da pedreira Saibrita que também proporcionou maior crescimento para cinco dos isolados: UFSC-Pt22, SA9, UFSC-Hg93, UFSC-Pt99, UFSC-Pt116, favorecendo, ainda, os isolados UFSC-Pt27, UFSC-Pt145 e UFSC-Pt186.

Casos de efeitos negativos da combinação rocha-isolado, em relação ao tratamento sem rocha, foram observados em todas as rochas, com maior frequência na flogopita olivina melilitito, fonolito e carbonatito. A ausência de efeito em relação à testemunha sem rocha foi observada com maior frequência em brecha alcalina e SB, em 21 e 20 combinações, respectivamente (Tabela 2.4).

Em relação aos efeitos negativos das rochas sobre os isolados, estes podem ser atribuídos à composição química ou cristalográfica destas, o que de alguma forma possa ter alterado as características do meio de cultura. Uma das hipóteses recai sobre a liberação de compostos inibidores do crescimento, presentes na estrutura das rochas testadas, e liberados destas durante a intemperização microbiológica. Outra hipótese que não pode ser descartada, pode estar relacionada a mudanças nos valores de pH do meio de cultura após a adição das rochas testadas, alcançando níveis inadequados para o pleno desenvolvimento dos microrganismos.

Tabela 2.4. Matéria seca (mg/50 mL) de isolados de fungos ectomicorrizicos cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes tipos de rochas.

Isolados	Rochas											Média
	FON ⁽¹⁾	PCA	CI	PCB	CAR	PSb	SB	BA	A	FLO	Test	
INRA-Cou	60 fhA ⁽²⁾	70 iJA	97 fhA	94 dFA	51 gHA	63 hJA	83 deA	83 dFA	83 fhA	83 eiA	84 hJA	77 jk
UFSC-Pr22	120 beBD	77 hjCE	137 agAB	104 cfBE	123 beAC	170 bdA	120 bdBD	133 bdAB	0 iF	60 giE	73 ijDE	101 hi
UFSC-Pr23	197 aA	163 aeAB	133 agBC	103 cfC	90 dgC	87 gjC	107 beC	133 bdBC	123 bfBC	90 chC	157 adAB	126 eg
UFSC-Pr24	90 dgAD	100 fiAB	0 iE	123 aeAB	47 ghDE	90 gjAD	93 ceAD	133 bdA	50 hiCD	80 fiBD	97 fjAC	82 jk
UFSC-Pr25	123 beB	197 aA	160 acAB	133 adB	147 bcB	113 eiB	123 bdB	153 acAB	140 aeB	113 bgB	144 afB	140 ce
UFSC-Pr26	137 bdAB	153 afA	100 ehAB	143 adAB	137 bdAB	120 dgAB	143 acAB	117 ceAB	130 bfAB	124 afAB	147 afAB	132 df
UFSC-Pr27	113 bfB	157 aeAB	144 agAB	133 adAB	140 bdAB	150 bdAB	140 acAB	163 acA	153 adAB	143 acAB	153 aeAB	144 cd
UFSC-Pr28	150 acAB	167 aeA	157 adAB	170 aA	110 cfBC	147 cfAB	147 acAB	157 acAB	140 aeAB	83 eiC	173 acA	145 cd
UFSC-Pr43	120 beA	123 eiA	163 abA	132 adA	0 hB	0 kB	120 bdA	0 gB	0 iB	0 jB	147 afA	73 k
UFSC-Sc57	97 cgAC	113 eiA	107 chAB	142 adA	97 cgAC	63 hjBD	60 eBD	57 fCD	54 giCD	33 ijD	53 jCD	79 jk
SA9	160 abAB	157 aeAB	153 aeAC	153 acAC	147 bcAC	180 bcA	147 acAC	120 ceBC	107 cgC	40 hjD	123 ciBC	135 cf
CSIRO-H1234	150 acAC	137 cgBC	150 afAC	153 acAC	173 abAB	120 dgCD	150 abAC	197 aA	190 aA	153 abAC	73 ijD	150 bc
UFSC-Hg93	117 beBC	140 bgAB	127 bhAC	143 adAB	80 egCD	170 bdA	133 adAB	140 bcAB	83 fhCD	67 giD	150 afAB	123 fg
UFSC-Ch98	0 iB	0 kB	0 iB	0 gB	0 hB	0 kB	0 fB	67 eFA	0 iB	0 jB	87 gJA	14 m
UFSC-Pr99	116 beBD	153 afAC	157 adBD	177 abC	167 abBC	257 aA	157 abBD	203 aB	103 dhE	140 adCE	180 acBC	174 ab
UFSC-Pr116	0 iD	167 aeA	0 iD	113 beBC	77 egC	167 beA	147 acAB	153 acAB	0 iD	0 jD	140 bgAB	88 ik
UFSC-Pr132	73 egBC	127 dhA	137 agA	0 gD	130 beA	0 kD	107 beAB	133 bdA	127 bfA	47 hjCD	147 afA	93 ij
UFSC-Pr145	123 beBC	177 adA	184 aA	167 abAB	173 abA	187 bcA	180 aA	197 aA	167 abAB	107 bgC	173 acA	167 a
UFSC-Sc148	0 lB	0 kB	0 iB	0 gB	0 hB	117 dhA	0 fB	0 gB	0 iB	0 jB	83 hJA	18 m
UFSC-Ch163	57 ghC	183 acA	103 dhBC	147 adAB	140 bdAB	90 gjC	150 abAB	167 acA	163 abA	137 aeAB	153 aeA	133 cf
UFSC-Pr183	113 bfAC	97 gjBC	143 agAB	0 gD	90 dgC	93 fjC	153 abA	153 acA	117 bfAC	157 abA	133 bhAC	113 gh
UFSC-Pr186	147 acDE	193 abAD	157 acBD	163 abAD	207 aA	203 bAB	157 abBD	180 abAD	153 adCD	103 bgE	197 aAC	169 a
UFSC-Pr187	113 bfBC	141 bgAB	77 hC	77 efC	123 beAC	83 gjC	113 beBC	140 bcAB	160 acAB	170 aA	117 diBC	119 fg
UFSC-Pr188	47 giAC	37 jkBC	93 fhA	53 fgAB	63 fgAB	60 hiAB	63 eAB	0 gC	53 giAB	87 diA	47 jAC	55 l
UFSC-Pr189	167 abF	33 jkEF	143 agAB	93 dfCD	77 egCE	47 jkDF	150 abA	74 efCE	87 ehCD	113 bgAC	100 ejBC	85 jk
Média	97 E	121 A	113 BC	109 CD	104 DE	111 CD	118 AB	122 A	99 E	85 F	125 A	

⁽¹⁾ BA-Brecha alcalina; SB-Granito da Saibrita; PSb-Pó da pedreira Saibrita; PCA-Granito da planície do Campeche A; PCB-Granito da planície do Campeche B; CI-Calciário de Irati; CAR-Carbonatito; A- Arenito; FLO-Flogopita olivina melilitito; FON-Fonolito.

⁽²⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

2.3.2. Potássio no micélio

Das fontes de potássio avaliadas, somente a brecha alcalina proporcionou efeito positivo na acumulação desse elemento no micélio dos isolados de fECM, com 61 mg de potássio. As fontes SB e pó da pedreira Saibrita não diferiram da testemunha sem rocha e nos demais casos, observou-se efeito negativo por parte dos microrganismos (Tabela 2.5).

Comparando-se as médias gerais dos isolados, observou-se que quatro deles apresentaram valores de potássio no micélio superiores à testemunha não inoculada: UFSC-Pt186, com 698 µg, UFSC-Pt145, com 408 µg, CSIRO-H1234, com 243 µg, e UFSC-Pt27, com 153 µg (Tabela 2.5). Em quatro isolados não foram verificadas diferenças e em 17 foram verificados valores inferiores à testemunha não inoculada.

Efeitos positivos entre as fontes de potássio e os fECM foram verificados em 52 das 250 combinações. Houve casos de interação em todas as rochas mas não em todos os isolados. Analisando-se o desempenho das rochas, observou-se que brecha alcalina e SB foram aquelas que proporcionaram efeitos positivos no conteúdo de potássio do micélio no maior número de combinações, em 9 dos isolados de fECM testados. Seguiu-se, então, o pó da pedreira Saibrita, com efeito positivo em 8 isolados. Carbonatito e fonolito foram as rochas com menor número de interações positivas, com apenas 2 isolados, possivelmente devido à ausência de micas, diminuindo, sobremaneira, a solubilização do potássio presente .

Tabela 2.5. Conteúdo de potássio solubilizado (μg) presente no micélio de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.

Isolado	Rochas											Média
	BA ⁽¹⁾	SB	PSb	PCA	CI	PCB	CAR	A	FLO	FON	Test	
UFSC-Pt186	1127 bA ⁽²⁾	819 abC	1297 aA	1217 aA	915 aBC	339 bcD	260 cDE	1015 aAC	364 abD	327 bD	0 aE	698 a
UFSC-Pt145	905 bcA	973 aA	565 cBC	718 bAB	-22 dFE	314 bdCD	111 cdDE	424 bcBC	458 aBC	41 ceDE	0 aE	408 b
CSIRO-H1234	879 bcA	-557 mnE	260 dICD	865 bA	526 bB	140 ceCD	932 aA	-859 jKE	307 abBC	175 bcCD	0 aD	243 c
UFSC-Pt27	171 gBC	-140 iID	501 cdA	350 cdAB	568 bA	153 ceBD	65 cdBD	-102 egCD	17 cdCD	100 bdBD	0 aCD	153 d
UFSC-Ch163	684 cdA	74 fiCD	-304 mnF	790 bA	176 cdC	578 abAB	-290 fEF	277 cdBC	-131 ciDF	-943 jKG	0 aCE	83 de
UFSC-Pt25	458 dFA	17 hjBC	215 ejAB	-179 fgCD	-210 fgCD	71 ceBC	24 ceBC	126 deB	-381 fiD	27 ceBC	0 aBC	15 ef
UFSC-Pt23	-299 lmBD	-36 ikBC	71 ikB	594 bcA	43 cfB	-435 iJD	-227 efBD	-57egBD	-45 ceBC	61 bdB	0 aBC	-30 fg
UFSC-Pt99	-915 oF	373 ceAB	192 gjBC	-7 efCD	183 cdBD	-112 ehDE	608 bA	-1033 kIF	388 abAB	-370 fGE	0 aCD	-63 fh
SA9	108 gjBC	354 ceB	327 chB	-602 iJE	-612 gE	-670 jKE	-675 iKE	601 bA	-228 dgD	233 bcBC	0 aCD	-106 gi
UFSC-Hg93	360 ehA	44 giBE	110 gKAD	300 dAC	318 bcAB	-79 ehDE	-893 jKG	-398 hF	-779 knG	-220 egEF	0 aCE	-112 gi
INRA-Cou	554 deA	365 ceAB	187 fjBC	-356 khDE	-123 efCD	-657 jKE	-600 giE	-410 hiDE	119 bcBC	-646 hiE	0 aC	-142 hj
UFSC-Pt22	1432 aA	302 dgBC	361 cgB	-609 iJE	-203 fD	-255 giD	-712 iKE	-1237 lmF	-613 kIE	-147dfD	0 aCD	-153 ij
UFSC-Pt24	236 fiAB	108 eiAB	-323 nD	326 cdA	-1105 iJF	60 dfAB	-664 hjE	-685 iJE	-54 ceBD	-302 fgCD	0 aBC	-219 jk
UFSC-Pt189	-651 noF	323 cfAB	471 ceA	-1100 lmG	523 bA	-594 jEF	39 ceBC	-300 ghDE	-286 ehD	-1131 kIG	0 aCD	-246 kl
UFSC-Pt43	-916 oD	481 cdAB	-916 oD	-555 hjD	214 cdBC	710 aA	-916 kD	-916 moD	-916 moD	765 aA	0 aC	-270 kl
UFSC-Pt187	456 dGA	-70 hkB	1214 pE	-384 gjCD	-485 gD	-426 ijCD	-151 dfBC	-287ghBD	-438 gjCD	-440 jhCD	0 aB	-313 lm
UFSC-Pt132	-9 ikBC	164 ehAB	-1249 pF	-152 fgCD	-203 fCD	-1249 iF	-395 fhD	313 cdA	-444 gjD	-938 jKE	0 aBC	-378 mn
UFSC-Pt26	89 hjA	113 eiA	-247 lnBC	-750 jkD	-501 gCD	-634 jD	-321 fC	-318 ghC	-1120 opE	-463 ghCD	0 aAB	-378 mn
UFSC-Sc57	184 fiA	-748 noDE	-37 jmAB	-236 fgBC	119 ceA	-279 hiBC	-834 iKE	-1003 kIE	-873 loE	-466 ghCD	0 aAB	-379 mn
UFSC-Pt188	-816 noE	-376 lmBC	-311 mnBC	-588 hjCE	-710 ghDE	-117 ehAB	154 cA	-694 jDE	-478 gjCD	-424 ghCD	0 aA	-396 mo
UFSC-Pt116	-184 jID	250 jID	729 bA	217 deBC	-1310 jE	434 bAb	-157 dfD	-1310 mE	-1310 pE	-1310 IE	0 aCD	-405 no
UFSC-Pt28	-211 kIB	-291 kmB	-695 oC	193 deA	-916 hiCD	-207 fiB	-701 iKC	-268 fhB	-1024 noD	-1024 kD	0 aAB	-468 op
UFSC-Pt183	-586 onDE	586 bcA	-164 knBC	-1282 mF	-750 ghE	-1458 iF	-360 igCD	51 deB	-549 hkDE	-1334 iF	0 aB	-531 p
UFSC-Ch98	-556 mnB	-690 noB	-690 oB	-690 jkB	-690 ghB	-690 jkB	-690 iKB	-690 jB	-690 jmB	-690 fjB	0 aA	-615 q
UFSC-Sc148	-921 oC	-921 oC	420 dFA	-921 kIC	-921 hiC	-921 kC	-921 kC	-921 jkC	-921 moC	-921 ikC	0 aB	-716 r
Test	0 ikA	0 hjA	0 iIA	0 efA	0 dFA	0 egA	0 ceA	0 eFA	0 cda	0 ceA	0 aA	0 ef
Média	61 A	39 AB	-17 B	-109 C	-199 D	-230 DE	-281 EF	-334 FG	-370 G	-386 G	0 B	0 ef

(1) BA-Brecha alcalina; SB-Granito da Saibrita; PSb-Pó da pedra Saibrita; PCA-Granito da planície do Campeche A; PCB-Granito da planície do Campeche B; CI-Calcário de Irati; CAR-Carbonatito; A-Arenito; FLO-Flogopita olivina melilitito; FON-Fonolito.

(2) Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

Quanto aos fungos, o maior número de interações foi observado nas combinações envolvendo os isolados UFSC-Pt186 e UFSC-Pt145, e o menor naquelas envolvendo os isolados UFSC-Pt25, UFSC-Pt23, UFSC-Pt22, UFSC-Pt24, UFSC-Pt183 e UFSC-Sc148. Não foram observados efeitos de interação entre fungo e rochas nas combinações envolvendo os isolados UFSC-Pt187, UFSC-Pt132, UFSC-Pt25, UFSC-Sc57, UFSC-Pt188, UFSC-Pt28 e UFSC-Ch98.

Verificou-se que a recuperação do potássio acidionado ao meio, solúvel ou na forma de pó de rochas, ocorreu nos tratamentos com as rochas SB, pó da pedreira Saibrita, brecha alcalina e PCA, com uma recuperação média, e considerando somente as combinações com efeitos de interação, de 11,7%, 2,5%, 2,6% e 2,7% do potássio adicionado, respectivamente. Entretanto, o carbonatito, apesar de ter sido a rocha que proporcionou o menor número de efeitos sinérgicos, foi a que apresentou a maior recuperação do potássio, com 15,4% (Tabela 2.5).

O maior valor de potássio no micélio foi verificado com o isolado UFSC-Pt186 em pó da pedreira Saibrita, com 1297 µg. Além desta fonte, este isolado obteve destaque em PCA, com 1217 µg, em brecha alcalina, com 1127 µg, em arenito, com 1015 µg, em CI com 915 µg, e em SB com 819 µg.

Outros isolados que se destacaram foram UFSC-Pt145, CSIRO-H1234, UFSC-Ch163, INRA-Cou e UFSC-Pt22 em brecha alcalina, UFSC-Pt27 em CI; UFSC-Pt23 em PCA; UFSC-Pt99 em carbonatito; UFSC-Pt43 em fonolito e UFSC-Pt183 em SB. O isolado UFSC-Pt145 também se destacou em combinação com SB, pó da pedreira Saibrita e PCA, e o isolado UFSC-Ch163 com PCA e PCB.

2.3.3. Potássio no meio de cultura

Diferentemente do observado para os valores de potássio no micélio, e considerando-se isoladamente as fontes de potássio, o carbonatito e a flogopita olivina melilitito foram as únicas fontes que proporcionaram maior solubilização de potássio em meio de cultura em relação à testemunha, sem rocha, com 35 µg e 14 µg, respectivamente (Tabela 2.6). O fonolito, com 7 µg de potássio solubilizado, não diferiu da testemunha, enquanto que as demais rochas não proporcionaram níveis detectáveis de potássio no meio.

Comparando-se as médias produzidas pelos fungos nos valores de potássio solubilizado, os isolados CSIRO-H1234, UFSC-Pt183, UFSC-Pt189, UFSC-Ch163, UFSC-Sc148, UFSC-Pt187, UFSC-Ch98 e UFSC-Pt132, foram aqueles que promoveram incrementos nos valores de potássio no meio de cultura quando comparados à testemunha não inoculada. Dentre os demais isolados testados, nove não diferiram da testemunha sem fungo e em oito casos, os valores foram inferiores aos observados no tratamento testemunha não inoculada, como foi o caso do isolado UFSC-Pt27.

Nas combinações rochas-isolados, observou-se aumento na maioria dos tratamentos envolvendo o isolado CSIRO-H1234, exceto com as rochas PCB, pó da pedreira Saibrita, PCA, brecha alcalina e CI. O isolado UFSC-Pt183 se destacou quando em combinação com carbonatito, fonolito, PCB, SB e PCA. O isolado UFSC-Pt189 em carbonatito, arenito e brecha alcalina; o isolado UFSC-Ch163 em carbonatito; o UFSC-Pt187 em carbonatito; o isolado UFSC-Pt132 em carbonatito, PCB e em pó da pedreira saibrita; o isolado UFSC-Pt186 em carbonatito e flogopita olivina melilitito e o isolado UFSC-Pt22 em PCA (Tabela 2.6).

Comparando-se na interação a média de rochas, verifica-se que os maiores números de efeitos positivos em relação ao tratamento testemunha sem rocha, foram observados quando da utilização do carbonatito, e os menores com Cl.

Na porcentagem de dissolução do conteúdo de potássio total presente nas amostras e liberado das fontes utilizadas, a maior média foi verificada com arenito, com 2,7%, seguido de carbonatito com 1,5% e Cl, com 1,13%. As demais fontes utilizadas apresentaram menos de 1%.

O maior valor de potássio solubilizado foi verificado no tratamento combinando o isolado CSIRO-H1234 e arenito, com 111 µg de potássio. Além do arenito, este isolado apresentou destaque na liberação de potássio no meio de cultura em flogopita olivina melilitito com 102 µg, 81 µg em carbonatito, 79 µg em SB e 61 µg em fonolito. Outros isolados que se destacaram foram o UFSC-Pt183 em carbonatito, fonolito e PCB; isolado UFSC-Pt189 em carbonatito e brecha alcalina; isolado UFSC-Ch163 e UFSC-Pt187 em carbonatito; isolado UFSC-Pt132 em carbonatito e pó da pedreira Saibrita e isolado UFSC-Pt 22 em PCB.

Tabela 2.6. Conteúdo de potássio solubilizado (μg) presente no meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.

Isolado	Rochas											Média
	CAR ⁽¹⁾	FLO	FON	CI	PCB	A	PSb	SB	PCA	BA	Test	
CSIRO-H1234	81abAC ⁽²⁾	102 abAB	61 abAD	51 abE	19 adDE	111 aA	40 acCE	79 aAC	6 cfDE	41abCE	0 aE	54 a
UFSC-Pt183	60 bdAB	55 bcAC	71 aA	49 abAC	69 aAB	18 cfBD	40 acAC	57 abAB	59 abAB	-34 fKD	0 aCD	40 ab
UFSC-Pt189	78 abA	31 cfAC	25 afAC	43 acAC	26 adAC	75 abA	37 adAC	42 acAC	8 ceBC	64 aAB	0 aC	39 ab
UFSC-Ch163	76 acA	47 cdAB	44 acAB	15 agB	-1 cGB	51 bcAB	44 abAB	10 bfB	24 adAB	17 aeB	0 aB	30 bc
UFSC-Sc148	37 bgA	31 cfA	38 adA	38 adA	34 acA	34 adA	-3 biA	30 adA	26 adA	39 acA	0 aA	28 bc
UFSC-Pt187	63 cdA	28 cgAB	27 afAB	47 abAB	9 cfAB	21 ceAB	23 aeAB	4 cgAB	7 ceAB	8 bgAB	0 aB	21 cd
UFSC-Ch98	26 chA	23 chA	26 afA	22 aeA	26 adA	22 ceA	21aeA	16 beA	30 acA	2 bhA	0 aA	19 ce
UFSC-Pt132	64 acA	40 ceAB	24 afAB	19 afAB	61 abA	-40 ghC	61 aA	1 cgBC	-44 fiC	2 bhBC	0 aBC	17ce
UFSC-Pt186	114 aA	107 aA	-7 dhBC	-11 ejBC	-4 cgBC	-4 dgBC	-34 fjC	-16 dhBC	29 acB	-35 jkC	0 aBC	13 df
INRA-Cou	48 beA	41 ceA	7cgAb	18 agAB	13 aeAB	17 cfAB	-21 ejBC	-21 eiBC	21 adAB	-54 iIC	0 aAC	6 df
UFSC-Pt22	37 bgAB	11 ciAC	17 bfAC	-17 ejBC	-9 cgBC	22 ceAB	-11 diBC	-8 chBC	61 aA	-39 gkC	0 aBC	6 df
UFSC-Pt99	47 beA	-4 eiAB	19 bfAB	-5 ciAB	9 cfAB	-1 dgAB	-8 ciAB	-4 chAB	9 beAB	-10 ckB	0 aAB	5 eg
UFSC-Pt28	41 bgA	10 ciAC	31 aeA	19 afAB	6 cfAC	-31 fhBC	11 afAC	-42 gjC	-14 cgAC	-28 ekBC	0 aAC	0 fg
UFSC-Pt145	39 bgA	39 ceA	8 cgAB	-10 dgAB	-11 chAB	-20 egB	-10 ciAB	3 cgAB	-11 cgAB	-42 gkB	0 aAB	-1 fh
UFSC-Sc57	34 bgA	-25 fiA	-5 dgA	-32 gkA	21 adA	-43 ghA	-38 fkA	-5 chA	-32 ehA	14 afA	0 aA	-10 gi
UFSC-Pt188	48 beA	-18 fiBC	15 bgAB	-6 ciAB	-24 diBC	-28 egBC	-2 biAB	-15 lnBC	-71 hjC	-7 bjAB	0 aAB	-10 gi
UFSC-Pt43	-5 fiA	-3 diA	-34 giA	-26 fkA	-40 fiA	-1 dgA	-5 biA	-35 fiA	-24 dhA	-5 biA	0 aA	-16 gi
UFSC-Pt24	24 dhA	-21 giAC	15 bgAB	2 ahAC	-15 ciAC	-37 ghBC	-40 gkBC	-50 fgC	-38 fhBC	-38 gkBC	0 aAC	-18 i
UFSC-Hg93	-8 fiAB	-7 eiAB	-23 fiAB	-53 ikAB	-49 giAB	-14 dgAB	-5 biAB	-16 dhAB	-57 giB	-28 ekAB	0 aA	-24 ij
UFSC-Pt116	13 deA	-7 eiAB	-15 ehAC	2 ahA	-64 iCD	-5 dgAB	-77 kCD	-41 gjAD	-12 cgAC	-57 jBD	0 aA	-24 ij
UFSC-Pt25	42 bfA	-14 fiAC	-7 dhAC	-48 hkBC	-61 hiC	-28 egBC	-44 hkBC	-35 fiBC	-28 efBC	-47 hiBC	0 aAB	-25 ij
UFSC-Pt23	-29 iAC	-27 hiAC	-5 dgAB	-59 jkBC	-33 ehAC	-40 ghAC	-63 jkC	-37 fjAC	-70 hjC	-15 ekAC	0 aA	-34jk
SA9	9 eiA	-28 iAC	-71 iCD	-31 fkAC	-6 cgAB	-14 dgAB	9 bgA	-112 kD	-113 jD	-57 jBD	0 aA	-38 jk
UFSC-Pt27	-9 gjAB	-23 hiAC	-34 giAC	-53 ikAD	-1 cFA	-105 iD	-52 ikAD	-73 jkCD	-69 hjCD	-58 klAD	0 aA	-43 k
UFSC-Pt26	-24 hiAB	-29 iAC	-57hiBD	-68 kBD	-70 iBD	-81 hiCD	-86 kCD	-67 ikBD	-89 jD	-96 iD	0 aA	-60 l
Test	0 eiA	0 diA	0 cgA	0 bhA	0 cgA	0 dgA	0 bhA	0 chA	0 cfA	0 bhA	0 aA	0 fg
Média	35 A	14 B	7 BC	-4 DE	-4 DE	-5 DF	-8 DG	-13 EG	-15 FG	-18 G	0 CD	

(1) BA-Brecha alcalina; SB-Granito da Saibrita; PCA-Granito da planície do Campeche A; PCB-Granito da planície do Campeche B; CI-Calcário de Irati; CAR-Carbonatito; A- Arenito; FLO-Flogopita olivina melilitito; FON-Fonolito.

(2) Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

2.3.4. Potássio total

Não foram observados efeitos positivos de rochas, quando consideradas isoladamente, nos valores de potássio total. Dos 25 isolados testados, apenas cinco: UFSC-Pt186, UFSC-Pt145, CSIRO-H1234, UFSC-Pt27 e UFSC-Ch163, apresentaram valores de potássio solubilizado superiores à testemunha não inoculada. Os isolados UFSC-Pt25, UFSC-Pt99 e UFSC-Pt23 não diferiram da testemunha não inoculada, e os demais apresentaram valores de potássio disponibilizados inferiores a esta (Tabela 2.7).

Diferenças no potencial de solubilização de nutrientes contidos em rochas por fungos ectomicorrízicos foram observados por diferentes autores. Paris, Botton e Lapeyrie (1996), avaliando a capacidade de fungos ectomicorrízicos dos gêneros *Paxillus* e *Pisolithus* de solubilizar potássio de flogopita in vitro, verificaram que isolados do primeiro gênero mostraram-se mais eficientes do que os do gênero *Pisolithus*. Yuan et al. (2004), verificaram diferenças entre isolados do gênero *Pisolithus* e a espécie *Cenococcum geophilum* na solubilização de potássio de flogopita. Wallander e Wickman (1999), avaliando a absorção de potássio de biotita e microclínio por plantas de *Pinus sylvestris* inoculadas com isolados de fECM pertencentes às espécies *Paxillus involutus* e *Suillus variegatus*, verificaram que as plantas colonizadas por *Suillus variegatus* foram mais eficientes na absorção de potássio da biotita que aquelas colonizadas por *Paxillus involutus*. Já em relação ao microclínio, não foi verificada influência da colonização micorrízica na solubilização do potássio presente nesta fonte.

Tabela 2.7. Conteúdo de potássio total solubilizado (μg) por isolados de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.

Isolado	Rochas											Test	Média
	BA ⁽¹⁾	SB	PSb	PCA	CI	PCB	CAR	A	FLO	FON	FON		
UFSC-Pt186	1092 abAB ⁽²⁾	803 abBC	1263 aA	1246 aA	904 aB	335 bdDE	374 bcD	1011 aAB	472 aCD	319 bDE	0 aE	711 a	
UFSC-Pt145	863 bcAB	977 aA	555 bcBD	707 bcAC	-32 dgF	304 beDF	149 ceEF	404 bcCE	497 aCD	49 beF	0 aF	407 b	
CSIRO-H1234	920 bcA	-477 npF	299 cfCE	871 bAB	577 bBC	160 ceDE	1013 aA	-748 lmF	408 abCD	236 bcCE	0 aE	296 c	
UFSC-Pt27	113 fhBD	-214 knD	449 bdAB	281 eAC	515 bcA	151 cfBC	56 dfCD	-207 fjD	-6 cdCD	67 bdCD	0 aCD	110 d	
UFSC-Ch163	702 cdA	84 ikCE	-261 hf	814 bA	191 deCD	577 abAB	-213 fhEF	328 bdBC	-84 cdDF	-899 kIG	0 aCF	112 d	
UFSC-Pt25	412 dFA	-18 iIBD	172 dgAB	-207 fgCE	-259 ghDE	11 egBD	66 cfBD	98 cfAC	-395 efE	20 bfBD	0 aBD	-9 e	
UFSC-Pt99	-924 nE	370 ceAB	184 dgBC	3 eFC	178 deBC	-103 fgC	655 bA	-1034 moE	384 abAB	-351 gjD	0 aC	-58 e	
UFSC-Pt23	-314 jkCD	-73 lmBC	8 fgBC	524 cdA	-15 dgBC	-468 ikD	-256 gjBD	-97 fBC	-71 cdBC	57 beB	0 aBC	-64 e	
INRA-Cou	501 deA	344 cgAB	166 dgAC	-335 gjDF	-104 egCE	-644 kIF	-552 ikF	-393 iKEF	159 bcBC	-639 ikF	0 aCD	-136 fg	
UFSC-Hg93	332 egA	28 hkAC	105 egAB	243 eA	265 cdA	-128 fhBD	-901 lE	-412 jkD	-786 gjE	-243 ehCD	0 aAC	-136 fg	
SA9	51 gjBC	242 diB	335 ceAB	-715 kID	-643 jID	-675 kID	-666 kID	587 bA	-256 deC	161 bdB	0 aBC	-144 eh	
UFSC-Pt22	1393 aA	293 dhBC	350 beB	-548 hKEG	-220 fhDE	-264 gjDF	-676 kIG	-1215 noH	-602 fhFG	-131 dgD	0 aCD	-147 fh	
UFSC-Pt189	-588 kmE	365 cfAB	508 bcA	-1093 mnF	566 bcA	-568 jKE	117 ceBC	-225 gjD	-255 deDE	-1106 lmF	0 aCD	-207 gj	
UFSC-Pt24	198 ehA	58 fKA	-363 hiCD	288 deA	-1103 kIE	45 dgAB	-640 jID	-722 lD	-75 cdAC	-288 fhBC	0 aAB	-237 hi	
UFSC-Pt43	-921 nE	446 cdAB	-921 jKE	-579 ikD	188 deBC	670 aA	-921 lE	-917 lnDE	-919 ijDE	731 aA	0 aC	-286 ij	
UFSC-Pt187	464 deA	-67 emBC	-1192 kF	-377 gjCE	-438 hiE	-417 hjDE	-88 dhBD	-267 hjBE	-410 efDE	-412 gjDE	0 aB	-291 ij	
UFSC-Pt132	-7 hjAB	164 dJA	-1187 kD	-196 fgBC	-184 fhBC	-1188 mnD	-331 hjBC	273 ceA	-403 efC	-914 lD	0 aAB	-361 jk	
UFSC-Sc57	198 ehA	-752 pqDE	-75 ghAB	-268 fhBC	88 dFA	-257 gjBC	-801 kIDE	-1046 moE	-897 hjE	-472 hjCD	0 aAB	-389 kl	
UFSC-Pt188	-823 lnF	-391 noCE	-313 hBD	-659 jIEF	-716 iJEF	-141 fhBC	201 cdA	-723 lEF	-496 egDF	-409 gjCE	0 aAB	-406 km	
UFSC-Pt116	-241 jJC	-291 lnC	652 bA	205 eB	-1308 lmD	371 acAB	-144 ehC	-1315 oD	-1317 kD	-1325 mD	0 aBC	-429 km	
UFSC-Pt26	-7 fjAC	46 gKA	-332 hBD	-839 kmFG	-569 iDF	-704 kIDF	-345 hjCD	-399 ikDE	-1149 jkG	-520 hjDF	0 aAB	-438 km	
UFSC-Pt28	-239 ijB	-332 mnBC	-685 jDE	179 eA	-896 jkDE	-201 gjB	-660 kICD	-300 hjB	-1014 iKE	-992 lDE	0 aAB	-467 lm	
UFSC-Pt183	-620 knDE	643 bcA	124 ghBC	-1223 nF	-701 iE	-1390 nF	-300 gjCD	69 dgB	-494 egD	-1263 mF	0 aBC	-491 m	
UFSC-Ch98	-554 kIB	-674 oqB	-669 ilB	-660 jIB	-668 jB	-664 kIB	-664 kIB	-668 kIB	-667 fhB	-664 jkB	0 aA	-596 n	
UFSC-Sc148	-883 mnC	-891 qC	418 bdA	-895 lmC	-883 jkC	-888 lmC	-884 lC	-888 lmC	-891 hiC	-883 kIC	0 aB	-688 n	
Test	0 hiA	0 hiA	0 fgA	0 eFA	0 dgA	0 eGA	0 dgA	0 eHA	0 cdA	0 cFA	0 aA	0 e	
Média	43 A	26 AB	-25 B	-124 C	-203 D	-234 D	-247 D	-339 E	-356 E	-380 E	0 AB		

⁽¹⁾ BA-Brecha alcalina; SB-Granito da Saibrita; PSb-Pó da pedra Saibrita; PCA-Granito da planície do Campeche A; PCB-Granito da planície do Campeche B; CI-Calcário de Irati; CAR-Carbonatito; A- Arenito; FLO-Flogopita olivina melilitito; FON-Fonolito.

⁽²⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

Na combinação dos fatores rochas-isolados, o tratamento envolvendo o isolado UFSC-Pt186 apresentou valores superiores em relação à testemunha não inoculada, em combinação com todas as fontes de potássio utilizadas. O isolado UFSC-Pt145 foi superior em brecha alcalina, SB, pó da pedreira Saibrita, PCA, arenito e flogopita olivina melilitito; o isolado CSIRO-H1234 em brecha alcalina, PCA, CI, carbonatito e flogopita olivina melilitito e o isolado UFSC-Pt22 em brecha alcalina e pó da pedreira Saibrita. A maioria dos isolados testados apresentou comportamento semelhante nas demais rochas testadas (Tabela 2.7).

A maior frequência de interações positivas foi observada nos tratamentos envolvendo brecha alcalina, SB e pó da pedreira Saibrita, e a menor nos tratamentos envolvendo PCB, flogopita olivina melilitito e fonolito. Embora tenham apresentado os maiores números de efeitos positivos em relação à testemunha não inoculada, estas fontes não foram aquelas que proporcionaram os maiores valores de solubilização de potássio pelos isolados de fECM. Isso se deu com a utilização de arenito, CI e carbonatito, com 17,8%, 14,25% e 13,5%, respectivamente.

A superioridade do carbonatito e CI em relação às demais fontes nos valores de potássio total solubilizados podem ser explicadas pela presença de minerais de fácil decomposição quando em contato com ácidos ou águas aciduladas, como a calcita e a dolomita (POPP, 1987; BIGARELA; BECKER; DOS SANTOS, 1994; ANDRADE et al., 2002). Tal fato facilita o acesso dos isolados de fECM ao potássio, apesar da baixa porcentagem do elemento em relação às demais rochas.

Os arenitos apresentam o quartzo como componente principal de sua estrutura, com maior resistência à solubilização (POPP, 1987). Embora não se disponha ainda de uma explicação para a maior solubilização de potássio nesta rocha, os resultados deste estudo estão de acordo com as observações de Arbiato

(2005), que em experimento utilizando as mesmas fontes de potássio, encontrou situação semelhante para o granito SB.

Os granitos, a exemplo de SB e pó da pedreira Saibrita, proporcionaram uma baixa solubilização de potássio. Este fato pode ser resultante da sua composição, com abundância de quartzo, um mineral rico em SiO_4 , que pode conferir alta resistência ao intemperismo (POPP, 1987; MACHADO, et al., 2005). Entretanto, como citado anteriormente para os arenitos, apesar de sua resistência ao intemperismo, o alto conteúdo de potássio presente nestas fontes (Tabela 2.3) poderia explicar os resultados positivos na solubilização desse elemento pelos isolados de fECM.

Tais resultados indicam a existência de outros fatores envolvidos na solubilização dessas rochas, visto que rochas que contém potássio em sua composição, apresentam uma maior diversidade de minerais que diferem quanto aos mecanismos de solubilização (ARBIETO, 2005).

Em brecha alcalina, a contribuição média dos isolados nos valores de potássio solubilizado foi de 7,93%, em pó da pedreira Saibrita, 2,72%, e em SB, 2,62%, considerando-se somente os isolados que apresentaram efeitos de interação (Tabela 2.7).

Considerando-se a média da contribuição dos isolados na solubilização de potássio em brecha alcalina, SB e pó da pedreira Saibrita, destacaram-se os isolados CSIRO-H1234, com solubilização de 9,2% do potássio presente na rocha, UFSC-Pt22 com 7,77%, UFSC-Ch163 com 7,02%, UFSC-Pt186 com 6,79% e UFSC-Pt145, com a solubilização de 5,23%.

O maior valor de potássio total solubilizado foi obtido com a combinação do isolado UFSC-Pt22 e brecha alcalina, com 1393 μg .

Os resultados obtidos demonstram a utilização, por parte dos isolados de fECM, de diferentes mecanismos para a solubilização do potássio presente nas rochas. O isolado UFSC-Pt183 não apresentou solubilização de potássio no micélio mas somente no meio de cultura. Neste caso, a solubilização do potássio presente nas rochas deve ter sido provocada pela acidificação do meio, seja pela excreção de ácidos orgânicos, ou pelo efluxo de íons H^+ , como demonstrado por outros autores (LAPEYRIE; RANGER; VAIRELLES, 1991; BIGELIS; ARORA, 1992; GADD, 1999; WANG et al., 2000, HOFFLAND et al., 2004).

Já o isolado UFSC-Pt27 não apresentou valores de potássio solubilizado no meio de cultura, mas somente absorção no micélio. Neste caso parece ter havido o consumo dos constituintes do mineral presentes na solução, deslocando o equilíbrio desta, com a conseqüente solubilização e liberação de nutrientes, para posterior absorção (WANG et al., 2000).

Em relação aos isolados, a seleção baseou-se na porcentagem de potássio liberada nas fontes que apresentaram um maior número de interações positivas. Nestas fontes, o isolado UFSC-Pt22 apresentou uma solubilização média de 14%; o isolado CSIRO-H1234 de 9,2%; UFSC-Pt186 com uma média de 7,3% do potássio presente nas fontes; o isolado UFSC-Ch163 com uma média de 7% e UFSC-Pt145 com 6,6%. Entre os isolados UFSC-Pt145 e UFSC-Ch163, deu-se preferência ao isolado do gênero *Pisolithus*, UFSC-Pt145, devido ao maior número de interações positivas em brecha alcalina, SB e pó da pedreira Saibrita, em relação ao isolado do gênero *Chondrogaster*, cujo desempenho na solubilização de minerais não foi ainda investigada em outros estudos.

Com base nestes resultados, adotou-se como critério para a seleção das fontes de potássio as que apresentaram um maior número de efeitos positivos nos

valores totais de potássio solubilizado pelos isolados de fECM em relação ao tratamento testemunha não inoculada, o que ocorreu com brecha alcalina, com nove interações positivas e pó da pedreira Saibrita com oito.

2.3.5. Fósforo no micélio

Não foram observados efeitos positivos das rochas nos valores de fósforo no micélio dos fECM. Exceto no caso da rocha SB, que não diferiu da testemunha sem rocha, as demais fontes proporcionaram valores inferiores aos obtidos com a respectiva testemunha (Tabela 2.8).

Os valores de fósforo no micélio foram superiores ao tratamento não inoculado, quando da inoculação com os isolados UFSC-Pt43 e UFSC-Pt188. Não foram observadas diferenças significativas na média dos isolados UFSC-Ch163, UFSC-Pt186, UFSC-Pt24, UFSC-Pt25, UFSC-H1234 e UFSC-Pt26. Os demais isolados apresentaram valores de fósforo no micélio inferiores aos obtidos com o tratamento testemunha não inoculado (Tabela 2.8).

Na interação com as rochas, os isolados UFSC-Pt43, UFSC-Pt24, UFSC-Pt26 e UFSC-Pt189 apresentaram valores de fósforo no micélio superiores à testemunha não inoculada na presença de SB; UFSC-Ch163, UFSC-Pt26 e INRA-Cou em brecha alcalina; UFSC-Ch163, UFSC-Pt186, CSIRO-H1234 e UFSC-Pt116 em pó da pedreira Saibrita; UFSC-Ch163 em PCA; UFSC-Pt24 e UFSC-Pt26 em arenito; UFSC-Pt43 em CI e PCB e em fonolito, juntamente com UFSC-Pt188 (Tabela 2.8).

Tabela 2.8. Conteúdo de fósforo solubilizado (μg) presente no micélio de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.

Isolado	Rochas												Test	Média
	SB ⁽¹⁾	BA	PSb	PCA	A	CI	PCB	CAR	FLO	FON				
UFSC-Pt143	156 aA ⁽²⁾	-11 egB	-11 dhB	0 beB	-11 dfB	152 aA	189 aA	-11 adB	-11 acB	152 aA	0 aB	54 a		
UFSC-Pt188	26 ceAC	-14 egC	37 acAB	14 acAC	9 beAC	9 bdAC	13 bcAC	20 aAC	-4 acBC	39 bA	0 aAC	14 b		
UFSC-Ch163	9 dhAC	48 abA	49 abA	49 aA	8 beAC	-32 eiC	1 bcBC	16 abAB	14 abAB	-85 ikD	0 aBC	7 bc		
UFSC-Pt186	28 ceAB	-35 ghE	46 abA	12 acAD	31 acAB	4 beBE	21 bAC	-18 aeCE	-27 cfDE	-28 cfDE	0 aBE	3 bd		
UFSC-Pt24	40 cdAB	14 beAD	-7 dgCE	31 abAC	51 aA	-121jF	16 bcAD	-29 cgE	24 aAD	-13 cdDE	0 aBE	1 ce		
UFSC-Pt25	58 bA	31 adAB	14 bdBC	1 beBD	21 adAB	-47 giE	24 bAB	-64 gjE	-25 ceCE	-36 cgDE	0 aBD	-2 ce		
CSIRO- H1234	-15 fjBC	6 cfB	49 abA	13 acAB	-66 ijD	19 bcAB	-19 ceBC	11 abAB	-19 bdBC	-56 egCD	0 aB	-7 df		
UFSC-Pt26	57 bcA	54 aA	-56 ikE	2 bdCD	39 abAB	-31 eiDE	11 bcBC	12 abBC	-136 jfF	-50 diE	0 aCD	-9 ef		
UFSC-Ch98	-20 gjA	-9 egA	-20 diA	-20 cfA	-20 dgA	-20 dhA	-20 bfA	-20 bfA	-20 bdA	-20 ceA	0 aA	-17 fg		
UFSC-Hg93	-7 eiAC	1 cgAB	-12 dhAC	16 acA	-40 fiBD	-6 cfAC	5 bcA	-85 ijE	-78 giDE	-46 dhCE	0 aAB	-23 gh		
INRA-Cou	-46 jkDE	49 abA	-3 dfBC	-36 dfCE	6 beB	-13 cgBD	-96 giF	-54 eiDE	-21 bdBD	-65 gjEF	0 aBC	-25 gh		
UFSC-Pt23	19 dfA	-5 dgAB	-51 ikCE	-42 fgBD	-3 cfAB	-16 cgAD	-85 ghE	-57 fiDE	-10 acAC	-49 diCE	0 aA	-27gh		
UFSC-Pt189	90 bA	-31 fhCD	-57 ikDE	-77 ghE	-11 dfC	36 bB	-89 ghE	-96 jkE	7 acBC	-93 jkE	0 aBC	-29 hi		
UFSC-Pt27	-40 ikBE	12 beA	-29 eiAD	-20 cfAC	-24 ehAD	-65 iDF	-64 fgDF	-71 hjEF	-51 dgCF	-87 ikF	0 aAB	-40 ij		
UFSC-Sc57	-68 kIC	19 aeA	-9 dhAB	-45 jhBC	-83 jC	-13 cgAB	-59 fgC	-70 hjC	-62 ehC	-79 hkC	0 aA	-43 j		
UFSC-Pt187	-1 ehAb	21 aeA	-147 IE	-51 fhCD	-3 cfAB	-57 hiCD	-39 efBD	-29 cgBC	-129 jkE	-79 hkD	0 aAB	-47 j		
SA9	18 dgA	-12 egA	-23 diAB	-82 hCD	3 beA	-134 jkE	-123 hiDE	-132 kIE	-64 fhBC	-7 cA	0 aA	-50 jk		
UFSC-Pt145	-42 ikBD	-3 dgAB	-46 hkCD	-13 cfAC	-66 ijDE	-44 fiBD	-69 fgDE	-54 eiCD	-113 ijF	-106 kIEF	0 aA	-50 jk		
UFSC-Pt99	-46 jkBC	-88 iD	-77 jkCD	-43 fgBC	-61 hjCD	-19 chAB	-43 efBC	-67 gjCD	-79 gjCD	-142 lmE	0 aA	-60 k		
UFSC-Pt116	-22 hjBC	-13 egBC	68 aA	15 acB	-147 kE	-147 jkE	-38 dfC	-80 hjD	-147 jE	-147mE	0 aBC	-60 k		
UFSC-Pt28	-42 ikB	-60 hiB	-52 ikB	-37 efAB	-52 gjB	-168 kIC	-60 fgB	-75 hjB	-171 lmC	-71 gkB	0 aA	-72 l		
UFSC-Pt132	-15 fjBC	37 acA	-202 mE	-46 fhC	-51 gjC	-34 eiBC	-202 jkE	-43 dhC	-163 kmDE	-134 lmD	0 aAB	-77 l		
UFSC-Pt22	-106 iCD	-75 iBC	-41 fjAB	-145 iDE	-251 mF	-123 jDE	-130 iDE	-161 lmE	-130 jkDE	-145 mDE	0 aA	-119 m		
UFSC-Pt183	-47 jkBC	7 cfA	-83 kCD	-223 jE	-11 afAB	-216 mE	-232 kE	-200 nE	-90 hiD	-217 nE	0 aA	-119 m		
UFSC-Sc148	-190 mC	-190 jC	-42 gjB	-190 jC	-190 iC	-190 lmC	-190 jC	-190 mnC	-190 mC	-190 nC	0 aA	-159 n		
Test	0 ehA	0 cgA	0 ceA	0 beA	0 ceA	0 beA	0 bdA	0 acA	0 acA	0 cA	0 aA	0 ce		
Média	-8 AB	-9 B	-27 C	-35 CD	-36 D	-49 E	-49 E	-59 F	-65 F	-67 F	0 A	0 ce		

(1) BA-Brecha alcalina; SB-Granito da Saibrita; PSb-Pó da pedreira Saibrita; PCA-Granito da planície do Campeche A; PCB-Granito da planície do Campeche B; CI-Calcário de Irati; CAR-Carbonatito; A- Arenito; FLO-Flogopita olivina melilitito; FON-Fonolito.

(2) Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

Valores de fósforo solubilizados pelos isolados de fECM superiores ao existente nas rochas, foram verificados em SB, com 160,4%, PCB com 189% e fonolito, com 115%.

O maior valor de fósforo no micélio foi verificado com o isolado UFSC-Pt43 em PCB com 189 µg. Este mesmo isolado obteve destaque em SB, CI e fonolito. Outros isolados com destaque foram o UFSC-Pt188, em SB e fonolito; UFSC-Ch163, em brecha alcalina, pó da pedreira Saibrita e PCA; UFSC-Pt186, em SB, pó da pedreira Saibrita, arenito e PCB; UFSC-Pt 24, em SB, PCA e arenito; UFSC-Pt 25, em SB e PCB; CSIRO-H1234, em pó da pedreira Saibrita; UFSC-Pt26, em SB, brecha alcalina e arenito; UFSC-Hg93, em PCA; INRA-Cou, em brecha alcalina; UFSC-Pt23, em SB; UFSC-Pt189, em SB e CI e isolado UFSC-Pt116, em pó da pedreira Saibrita (Tabela 2.8).

2.3.6. Fósforo no meio de cultura

Com exceção do fonolito, que não proporcionou valores de fósforo no meio de cultura superiores à testemunha sem rocha, todas as demais fontes testadas proporcionaram solubilização de fósforo, com destaque para PCB e SB, com 3,0 µg de fósforo liberado, representando a solubilização cerca de 3,0% e 6,0% do fósforo contido nessas fontes, respectivamente (Tabela 2.9).

Dos 25 isolados testados, 18 apresentaram valores superiores à testemunha não inoculada, com destaque para os isolados UFSC-Pt188, UFSC-Pt183 e UFSC-Pt187, com 10,9 µg, 9,1 µg e 9,0 µg de fósforo solubilizados, respectivamente. Em dois isolados não houve diferença nos valores em relação ao tratamento testemunha não inoculada e, em cinco deles, observaram-se valores inferiores (Tabela 2.9).

Na interação dos fatores, observou-se que no total de 250 combinações, 120 apresentaram efeitos positivos, 33 negativos, em relação à testemunha sem fungo. Nas demais, não foram detectados efeitos significativos em relação ao tratamento.

Em relação à testemunha sem rocha, efeitos positivos foram verificadas em 116 combinações, e negativos em 32 delas. As demais combinações não proporcionaram efeitos detectáveis.

Comparando-se o efeito do isolados, o maior número de efeitos positivos em relação à testemunha não inoculada foi verificado quando da inoculação com UFSC-Pt188, com uma solubilização média de 4,2% do fósforo presente nas fontes testadas. Os isolados UFSC-Pt183 com 4,1%, UFSC-Pt187 com 2,55%, UFSC-Pt16 com 2,63%, UFSC-Sc148 com 1,88%, UFSC-Pt132 com 2,54%, UFSC-Pt28 com 2,15%, UFSC-Pt43 com 1,37%, CSIRO-H1234 com 1,54% e INRA-Cou com 2,76%, também se destacaram.

Comparando-se, na interação, os valores das fontes de P disponíveis no meio de cultura, observa-se que arenito foi a fonte de fósforo em que observou-se a solubilização do nutriente por um maior número de microrganismos, 17 no total, seguido por carbonatito com 16, Cl, flogopita olivina melilitito e PCB com 13 isolados, SB e pó da pedreira Saibrita com 12, brecha alcalina com 11, PCA com oito e fonolito com cinco isolados respectivamente (Tabela 2.9).

A maior solubilização de P ocorreu em PCB, com uma média de 7,7% do total presente na fonte. Fonolito, SB e PC apresentaram, respectivamente, 3,58%, 3,54% e 3% do fósforo presente solubilizado, tendo as demais fontes apresentado porcentagens inferiores. O mínimo foi obtido com carbonatito, com uma solubilização de cerca de 0,21% do conteúdo de fósforo presente nesta fonte.

Tabela 2.9. Conteúdo de fósforo solubilizado (μg) presente no meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas e cultivado com fungos ectomicorrízicos.

Isolado	Rochas												Média
	A ⁽¹⁾	CAR	CI	FLO	PCB	SB	BA	PSb	PCA	FON	Test		
UFSC-Pt188	11,8 bBC ⁽²⁾	11,7 abBC	11,9 aBC	14,7 aAB	15,9 aA	12,4 aBC	13,4 aAC	11,4 aC	8,2 bD	8,1 aD	0,0 aE	10,9 a	
UFSC-Pt183	13,6 abA	6,9 cdB	13,2 aA	14,9 aA	13,0 bA	14,8 aA	3,0 efCD	2,0 dfD	13,3 aA	5,9 aBC	0,0 aD	9,1 b	
UFSC-Pt187	14,1 a A	13,0 aA	13,3 aA	15,8 aA	4,6 deB	13,6 aA	14,3 aA	4,0 bdB	3,8 cdB	2,5 bBC	0,0 aC	9,0 b	
UFSC-Pt199	4,6 dfDF	9,5 bcAB	3,4 chEF	5,3 cfCE	9,9 cA	5,1 bcCE	1,9 egFG	6,7 bBD	4,9 cCF	7,7 aAC	0,0 aG	5,4 c	
UFSC-Pt132	4,6 dfBC	9,2 bcA	4,8 bfB	3,5 fiBC	11,5 bcA	3,2 ceBC	4,3 ceBC	11,1 aA	1,7 dgCD	2,5 bBD	0,0 aD	5,1 c	
CSIRO-H1234	8,5 cB	9,3 bcAB	4,2 bgDE	7,9 bcBC	2,0 ehDF	5,0 bcCD	3,8 dfDE	11,9 aA	0,2 ghF	1,5 bcEF	0,0 aF	5,0 cd	
UFSC-Pt148	6,4 ceAB	5,1 dfAB	5,1 beAB	3,7 fhBC	5,9 dAB	6,2 bAB	7,0 bcA	4,7 bdAB	1,6 dhCD	5,7 aAB	0,0 aD	4,7 ce	
INRA-Cou	4,2 dfCD	3,9 egCD	6,5 bBC	8,9 bAB	11,2 bcA	5,8 cC	0,2 ghEF	-1,4 hiF	4,8 cC	1,7 bcDE	0,0 aEF	4,2 de	
UFSC-Pt28	6,5 cdAB	4,7 dgBC	5,7 bdAB	1,2 hkD	5,4 dAB	1,6 dgD	1,9 egCD	6,5 bAB	4,7 cBC	8,3 aA	0,0 aD	4,2 de	
UFSC-Pt43	5,3 dfA	6,0 deA	6,0 bcA	7,0 bdA	-2,3 jIB	5,2 bcA	6,8 cA	6,1 bA	4,9 cA	-1,0 cdB	0,0 aB	4,0 e	
UFSC- Pt186	4,1 dfB	13,4 aA	3,1 dhBC	4,2 egB	0,7 gjCD	2,1 dfBD	3,4 efBC	0,7 ehCD	-0,5 gjD	0,7 bcCD	0,0 aD	2,9 f	
UFSC-Pt22	8,6 cA	4,7 dgBC	2,2 fjCD	6,6 bdAB	1,0 giDE	1,7 dgCE	1,1 fhDE	-1,1 hE	0,5 fhDE	1,7 bcCE	0,0 aDE	2,5 fg	
UFSC-Pt145	3,7 egB	9,2 bcA	2,0 gfBC	1,5 gjBD	3,2 dgB	1,0 egBD	1,6 egBD	2,7 dfBC	-1,1 hkD	0,9 bcBD	0,0 aCD	2,2 fh	
UFSC-Pt25	6,2 ceA	2,2 gjBD	1,1 fkCE	1,1 hkCE	4,1 dfAC	5,0 bcAB	-1,4 hEF	-2,4 hiF	3,3 ceAC	2,4 bBD	0,0 aDF	2,0 gi	
UFSC-Ch163	4,8 dfBC	2,1 gjCD	-1,1 kEF	-5,5 IG	5,3 dB	0,0 fgDF	9,7 bA	5,8 bcB	1,6 dhDE	-2,6 deFG	0,0 aDE	1,8 gi	
UFSC-Ch98	1,3 gjCD	2,5 fiBC	2,6 elBC	-1,0 jkD	4,5 deAB	-0,2 fgCD	6,3 cdA	-1,1 hD	1,0 ehCD	1,7 bcBD	0,0 aCD	1,6 hi	
UFSC-Pt189	-0,2 iCD	3,6 ehAB	1,0 hkBC	1,3 hjBC	-3,9 kIE	4,9 bcA	6,1 cdA	3,3 ceAB	-0,1 giCD	-2,2 deDE	0,0 aCD	1,3 ij	
UFSC-Pt116	4,7 dfAB	3,1 fhAC	6,1 bcA	4,7 dfAB	-5,0 IE	1,2 dgCD	-4,9 iE	0,8 ehCD	2,5 cgBD	-0,2 bdD	0,0 aD	1,2 ij	
UFSC-Pt24	2,7 fhB	1,0 hjBC	6,0 bcA	0,9 iBC	-2,5 jDE	-0,7 gCE	1,5 fgBC	0,4 fhBD	-3,0 jKE	1,1 bcBC	0,0 aBE	0,7 jk	
SA9	5,4 dfA	3,1 fhAB	2,3 fjBC	-1,5 kD	5,6 dA	2,1 dfBC	-5,9 iJE	2,7 dfAC	-10,8 lmF	-8,8 ghEF	0,0 aCD	-0,5 lm	
UFSC-Pt23	1,3 giA	-0,5 já	0,1 iKA	-0,5 jKA	0,0 hjA	-4,6 hB	-0,8 ghA	-1,3 hiA	0,1 ghA	-6,9 fgB	0,0 aA	-1,2 mn	
UFSC-Pt57	-0,2 iBC	-3,7 kDE	-1,2 kBE	1,2 hkAB	1,7 fhAB	3,8 bdA	-0,8 ghBD	-4,0 iJE	-2,8 ikCE	-10,1 hF	0,0 aBC	-1,5 n	
UFSC-Pt27	-0,8 iAC	-0,2 ijAB	-0,2 jKAB	1,4 hjAB	-1,5 ikBD	-4,9 hE	1,7 egA	-6,0 jE	-3,5 kCE	-4,3 efDE	0,0 aAB	-1,7 n	
UFSC-Hg93	-0,5 iAB	-4,0 kC	-1,2 kBC	-11,2 mE	-2,7 jBC	1,9 dgA	-6,8 iJD	-0,7 ghAB	-8,8 IDE	-7,3 gD	0,0 aAB	-3,8 o	
UFSC-Pt26	-4,6 jB	-7,3 iBD	-5,3 iBC	-7,9 iCD	-9,6 mDE	-9,5 iDE	-8,4 jD	-9,9 kDE	-12,0 mE	-10,2 hDE	0,0 aA	-7,7 p	
Test	0,0 hiA	0,0 iJA	0,0 iKA	0,0 jKA	0,0 hjA	0,0 fgA	0,0 ghA	0,0 ghA	0,0 ghA	0,0 bdA	0,0 aA	0,0 kl	
Média	4,5 A	4,2 A	3,5 AB	3,0 B	3,0 B	3,0 B	2,3 C	2,0 C	0,6 D	-0,1 E	0,0 E	0,0 E	

(1) BA-Brecha alcalina; SB-Granito da Saibrita; PSb-Pó da pedreira Saibrita; PCA-Granito da planície do Campeche A; PCB-Granito da planície do Campeche B; CI-Calcário de Irati; CAR-Carbonatito; A- Arenito; FLO-Flogopita olivina melilitito; FON-Fonolito.

(2) Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

O maior valor de fósforo solubilizado no meio de cultura foi obtido com a combinação do isolado UFSC-Pt188 com a rocha PCB, com 15,9 µg. Este isolado também obteve destaque nas demais rochas utilizadas. Outros isolados que se destacaram foram o UFSC-Pt183, em arenito, CI, flogopita olivina melilitito, PCB, SB e PCA; UFSC-Pt187, em arenito, carbonatito, CI, flogopita olivina melilitito, SB e brecha alcalina; UFSC-Pt99, em carbonatito e PCB; UFSC-Pt132, em carbonatito, PCB e pó da pedreira Saibrita; CSIRO-H1234, em arenito, carbonatito, flogopita e pó da pedreira Saibrita; INRA-Cou, em flogopita olivina melilitito e PCB; UFSC-Pt28, em fonolito; UFSC-Pt186 e UFSC-Pt145, em carbonatito; UFSC-Pt22, em arenito e UFSC-Ch163, em brecha alcalina (Tabela 2.9).

2.3.7. Fósforo total

Com exceção de SB e da brecha alcalina, que não diferiram da testemunha sem rocha, as demais rochas apresentaram resultados inferiores à testemunha. O fonolito e a flogopita olivina melilitito foram as rochas que apresentaram os maiores valores de fósforo imobilizado, com -67µg e -62µg, respectivamente. Comportamento semelhante das fontes citadas foi verificado nos valores de fósforo no micélio (Tabela 2.8).

Dos isolados testados, valores de fósforo solubilizados superiores à testemunha não inoculada, foram verificados somente com os isolados UFSC-Pt43 com 58 µg e UFSC-Pt188 com 25 µg. Os isolados UFSC-Ch163, UFSC-Pt186, UFSC-Pt24 e UFSC-Pt25, apesar de apresentaram solubilização deste elemento, não diferiram da testemunha não inoculada. Os demais isolados, com exceção do CSIRO-H1234, apresentaram valores de P mobilizados inferiores a esta (Tabela

2.10). Conforme discutido na solubilização de potássio, diferenças no potencial de solubilização de nutrientes contidos em rochas por fungos ectomicorrízicos foram observadas por diferentes autores (PARIS; BOTTON; LAPEYRIE, 1996; WALLANDER; WICKMAN, 1999; YUAN et al., 2004).

Na interação dos fatores, SB apresentou efeito positivo nos valores de fósforo mobilizado em relação ao tratamento testemunha não inoculada com 5 isolados de fECM, UFSC-Pt43, UFSC-Pt24, UFSC-Pt25, UFSC-Pt26 e UFSC-Pt189, com uma recuperação média de 164% do fósforo presente nesta fonte. Fonolito, com o efeito positivo observado quando da inoculação dos isolados UFSC-Pt43 e UFSC-Pt188 apresentou uma recuperação média de 198% do fósforo presente. Em PC201B, o único isolado a apresentar efeito positivo dentro desta fonte, UFSC-Pt43, apresentou uma recuperação de 186% do fósforo presente. Já em PCA, o isolado UFSC-Ch163 recuperou 102% do fósforo adicionado.

Nas demais fontes de fósforo testadas, observou-se a solubilização de cerca de 3,3% do fósforo presente em brecha alcalina com os isolados UFSC-Ch163, UFSC-Pt26, INRA-Cou e UFSC-Pt132; 22,4% em pó da pedreira Saibrita com os isolados UFSC-Pt188, UFSC-Ch163, UFSC-Pt186, UFSC-H1234 e UFSC-Pt116. A solubilização de 9% do fósforo presente no arenito foi observada quando da inoculação do isolado UFSC-Pt 24 e de 39,5% em CI com o isolado UFSC-Pt 43.

O maior número de efeitos positivos na solubilização de P foi verificado com o isolado UFSC-Pt43 em SB, CI e PCB, com uma recuperação média de 212% do fósforo presente nestas fontes. O isolado UFSC-Pt189, em SB, foi responsável pela solubilização de 190% do fósforo presente (Tabela 2.10).

Tabela 2.10. Conteúdo de fósforo total solubilizado (μg) por isolados de fECM cultivados em meio de cultura GEL suplementado com diferentes rochas.

Isolado	Rochas											Test	Média
	SB ⁽¹⁾	BA	PSb	A	PCA	CI	PCB	CAR	FLO	FON	FON		
UFSC-Pt43	161 aA ⁽²⁾	-4 cgB	-5 cfB	-6 cgB	5 bgB	158 aA	186 aA	-5 acB	-4 abB	151 aA	0 aB	58 a	
UFSC-Pt188	39 ceAB	0 cgB	49 abA	21 acAB	22 acAB	21 bdAB	29 baB	32 aAB	11 abAB	47 baA	0 aB	25 b	
UFSC-Ch163	9 dhCE	57 aA	55 aAB	13 bdBD	51 aAC	-34 fIF	7 bcDF	18 abAD	9 abCE	-87 gjG	0 aDF	9 c	
UFSC-Pt186	30 cfAB	-32 ghD	46 abA	35 abAB	12 aeAC	7 beAD	22 bcAB	-4 acBD	-22 bdCD	-27 cfCD	0 aBD	6 c	
UFSC-Pt25	63 bcA	30 adAB	12 bcBC	28 acAB	4 bgBD	-46 hiE	28 baB	-62 fjE	-23 bdCE	-33 cfDE	0 aBD	0 c	
UFSC-Pt24	40 cdAB	15 beAD	-7 cgCD	54 aA	28 abD	-115 jE	13 bcAD	-28 cfD	25 aAC	-12 cCD	0 aBD	1 c	
CSIRO-H1234	-10 gkB	10 bfB	61 aA	-58 ikD	13 aeB	23 bcAB	-17 ceBD	20 abAB	-11 acBC	-54 dgCD	0 aB	-2 c	
UFSC-Pt26	48 cdA	46 abA	-66 jkD	34 abAB	-10 biC	-36 fiCD	2 bdBC	5 acAC	-144 ikE	-60 fiD	0 aBC	-16 d	
UFSC-Ch98	-20 hKA	-3 cgA	-21 ciA	-19 diA	-19 diA	-18 dhA	-16 ceA	-18 beA	-21 bdA	-18 ceA	0 aA	-16 d	
INRA-Cou	-40 jCE	49 abA	-4 ceBC	10 beAB	-31 fiBE	-6 cgBC	-85 ghF	-50 diDF	-12 acBD	-64 fIEF	0 aBC	-21 de	
UFSC-Hg93	-5 fjAB	-6 dgAB	-12 cgAC	-41 fjBC	8 bfA	-8 chAB	2 bdAB	-89 iJD	-89 ehD	-53 dgCD	0 aAB	-27 df	
UFSC-Pt23	15 dhA	-6 dgAC	-52 hkCE	-2 bfAB	-42 ijBE	-16 chAD	-85 ghE	-58 fjDE	-11 acAC	-56 ehDE	0 aAB	-28 ef	
UFSC-Pt189	95 baA	-25 cD	-54 ikDE	-11 chCD	-77 jkE	37 bB	-93 giE	-93 jkE	8 abBC	-95 ikE	0 aBC	-28 ef	
UFSC-Pt187	12 dhAB	35 acA	-143 iF	11 beAB	-47 iJD	-44 giD	-34 dfCD	-16 bdBC	-113 giEF	-77 gjDE	0 aAC	-38 fg	
UFSC-Pt27	-45 klCD	14 bfA	-35 djBD	-25 ejAC	-24 eiAC	-65 iCE	-66 fgCE	-71 gjDE	-50 ceCE	-91 gjE	0 aAB	-42 gh	
UFSC-Sc57	-64 iD	18 aeA	-13 chAB	-84 kD	-48 ijBD	-15 chAC	-57 fgCD	-73 gjD	-60 deD	-89 gjD	0 aA	-44 gi	
UFSC-Pt145	-41 jIAC	-2 cgAB	-44 fkBC	-63 jkCD	-14 ciAB	-42 giAC	-65 fgCD	-45 dhBC	-112 hiE	-105 jIDE	0 aA	-48 gj	
SA9	20 dgA	-17 egA	-20 ciA	9 beA	-93 kBC	-131 jkC	-117 hiC	-129 kiC	-66 eB	-16 cdA	0 aA	-51 hj	
UFSC-Pt99	-41 jIAC	-86 iD	-71 jkCD	-57 ikBD	-38 hjAC	-15 chAB	-33 dfAC	-57 ejBD	-73 efCD	-135 lmE	0 aA	-55 ij	
UFSC-Pt116	-21 hjBC	-18 egBC	69 aA	-142 iE	17 adB	-141 jkE	-43 efCD	-77 hjD	-142 ikE	-147 mnE	0 aBC	-59 jk	
UFSC-Pt28	-40 jiAB	-58 hiB	-45 gkB	-45 gkB	-32 giAB	-163 klC	-54 fgB	-70 gjB	-170 klC	-63 fiB	0 aA	-67 kl	
UFSC-Pt132	-12 gkBC	41 abA	-191 mE	-46 hkC	-44 ijC	-29 eiBC	-190 jE	-34 cgBC	-159 jIDE	-131 kmD	0 aAB	-72 l	
UFSC-Pt183	-32 iIAB	10 bfA	-81 kC	2 beA	-210 mD	-203 mD	-219 jD	-193 mD	-75 egBC	-211 oD	0 aA	-110 m	
UFSC-Pt22	-104 mCD	-74 iBC	-42 ekAB	-243 nF	-145 iDE	-121 jDE	-129 iDE	-156 lmE	-124 hjDE	-143 lmDE	0 aA	-116 m	
UFSC-Sc148	-184 nB	-183 jB	-38 djA	-183 mB	-188 mB	-185 lmB	-184 jB	-185 mB	-186 iB	-184 nB	0 aA	-154 n	
Test	0 eiA	0 cgA	0 cdA	0 beA	0 bhA	0 bfA	0 bdA	0 acA	0 abA	0 cA	0 aA	0 c	
Média	-5 A	-7 A	-25 B	-31 BC	-35 C	-45 D	-46 D	-55 E	-62 EF	-67 F	0 A	0 c	

(1) BA-Brecha alcalina; SB-Granito da Saibrita; PSb-Pó da pedra Saibrita; PCA-Granito da planície do Campeche A; PCB-Granito da planície do Campeche B; CI-Calcário de Irati; CAR-Carbonatito; A- Arenito; FLO-Flogopita olivina melilitito; FON-Fonolito.

(2) Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05\%$).

Os altos valores de fósforo solubilizados pelos isolados de fECM não estão relacionados com o conteúdo deste elemento presente nas rochas, visto que SB, PCA, PCB e fonolito, apresentam, no máximo, 0,2% de fósforo (Tabela 2.3). Além disso, as três primeiras rochas são granitos, que apresentam em sua composição o quartzo, com cerca de 65% de SiO₄ (MACHADO, 2005), conferindo a este mineral uma alta resistência aos agentes intemperizantes (BIGARELA; BECKER; DOS SANTOS, 1994). Já o fonolito apresenta sua solubilização dificultada devido à presença em sua composição de cerca de 40% de plagioclásio.

Desta forma, os altos valores de fósforo solubilizados pelos isolados de fECM não estão relacionados à mobilização do elemento presente nas rochas, e sim à mineralização do fósforo do meio de cultura, encontrado principalmente no extrato de levedura. Este efeito está relacionado à capacidade dos isolados de fECM de produzirem enzimas fosfatases, responsáveis pela mineralização de fosfatos orgânicos (TAM; GRIFFITHS, 1993). Souza (2003), em experimento utilizando isolados de fECM pertencentes à coleção da UFSC, verificou que plantas inoculadas com o isolado UFSC-Pt188 apresentaram valores de P na parte aérea superiores ao aplicado na forma de Ca(H₂PO₄)₂.2H₂O, apontando a capacidade desse fungo de mineralizar o fósforo orgânico presente em algum componente do substrato, neste caso a turfa.

Em relação às rochas, os menores valores de fósforo solubilizado foram observados nas fontes que apresentavam os maiores conteúdos do elemento em sua composição. Brecha alcalina, com 0,29% (Tabela 2.3), apresentou uma mobilização de 3,3%. Flogopita olivina melilito e carbonatito, com 0,30% e 0,68% de P, respectivamente, não proporcionaram mobilização desse elemento.

Estes resultados não podem ser explicados apenas pela dificuldade de

solubilização dos minerais presentes nessas rochas, visto que a flogopita olivina melilitito possui em sua composição as olivinas, minerais de fácil decomposição por oxidação, segundo Bigarella, Becker e dos Santos (1994). O carbonatito também contém minerais facilmente decompostos em contato com ácidos ou águas aciduladas, como a calcita e a dolomita (POPP, 1987; ANDRADE et al., 2005). Já os baixos valores de fósforo solubilizados em brecha alcalina podem ser atribuídos à presença de minerais resistentes à decomposição, como os plagioclásios.

A presença de minerais de fácil intemperização, bem como o grau de substituição de CO_2 , contribuem para o aumento na eficiência dos fosfatos, favorecendo à solubilização do nutriente presente na rocha (ALCARDE; PONCHIO, 1983). Além disso, as substituições isomórficas dos fosfatos por carbonatos favorecem a mobilização do fósforo presente, resultante da hidrólise da rocha (KAMINSKI; PERUZZO, 1997).

O maior valor de fósforo solubilizado foi obtido com o isolado UFSC-Pt43 em PC201B. Como discutido anteriormente, este resultado pode ser devido à mineralização do fósforo orgânico presente no meio de cultura, oriundo do extrato de levedura, e não à solubilização do fósforo presente na rocha. Outros isolados que obtiveram destaque na solubilização de P foram o UFSC-Pt188 em SB1B, pó da pedreira Saibrita, PCA, PCB e fonolito; UFSC-Ch163 em brecha alcalina, pó da pedreira Saibrita e PCA; UFSC-Pt186 em SB, pó da pedreira Saibrita e arenito; UFSC-Pt25 em SB e PCB; UFSC-Pt24 em SB e PCA e UFSC-Pt26 em SB e brecha alcalina.

A solubilização de fósforo pode ocorrer, como citado para potássio, por diferentes mecanismos, seja pela acidificação do meio através da liberação de ácidos orgânicos ou através da extrusão de íons H^+ (LAPEYRIE; RANGER;

VAIRELLES, 1991; BIGELIS; ARORA, 1992; HOFFLAND, 1992; GADD, 1999; WANG et al., 2000; HOFFLAND et al., 2004). Tais mecanismos parecem ter sido utilizados pelos isolados UFSC-Pt188 em brecha alcalina e flogopita olivina melilitito e UFSC-Pt183 em SB e pó da pedreira saibrita. A solubilização também pode ser proporcionada pelo consumo de cátions acompanhantes, deslocando o equilíbrio da solução com conseqüente solubilização da rocha e liberação de fosfatos, como citado por Silva Filho e Vidor (2001). Este último foi o provável mecanismo utilizado pelo isolado UFSC-Pt26 em SB e brecha alcalina.

Com base nestes resultados, as rochas brecha alcalina e pó da pedreira Saibrita e os isolados UFSC-Pt26, UFSC-Ch163, UFSC-Pt186 e UFSC-Pt188 apresentam potencial para estudos em casa de vegetação visando comparar o efeito da adubação com pó de rochas e da inoculação com fungos ectomicorrízicos em substituição à adubação fosfatada.

CONCLUSÕES

- Os isolados do gênero *Pisolithus*, UFSC-Pt186, UFSC Pt145 e UFSC-Pt99, apresentam maior produção de matéria seca que os demais isolados testados.
- Os isolados UFSC-Pt22, CSIRO-H1234, UFSC-Pt145 e UFSC-Pt186 apresentam potencial para a solubilização de potássio e os isolados UFSC-Pt26, UFSC-Ch163, UFSC-Pt186 e UFSC-Pt188 para a solubilização de fósforo, a partir de brecha alcalina e pó da pedreira Saibrita.
- Dentre as rochas testadas, a brecha alcalina e o pó da pedreira saibrita apresentam maior potencial para promover o crescimento dos fungos ectomicorrízicos, bem como proporcionam, por parte destes, a maior solubilização de potássio e fósforo.

CAPÍTULO 3

SOLUBILIZAÇÃO DE NUTRIENTES CONTIDOS EM ROCHAS POR FUNGOS ECTOMICORRÍZICOS E O CRESCIMENTO DE *Eucalyptus dunnii* Maiden

3.1. INTRODUÇÃO

Vários sistemas de produção possuem características que facilitam a introdução de microrganismos selecionados, particularmente aqueles que utilizam a produção de mudas para transplante, como os cultivos florestais. Nesses sistemas, é comum a prática da desinfecção do solo ou do substrato, sendo a produção de mudas feita em sementeira ou em tubetes, utilizando-se pequena quantidade de substrato. Esses procedimentos reduzem a população microbiana nativa, propiciam a inoculação em altas concentrações e favorecem o estabelecimento dos microrganismos desejados (ALVES; MENDOZA; SILVA FILHO, 2002).

A associação micorrízica traz benefícios para o fungo e para a planta a ele associado, destacando-se o aumento na absorção de nutrientes orgânicos e inorgânicos (SMITH; READ, 1997; WALLANDER, 2000a; 2000b; MAHMOOD et al., 2001).

O processo de seleção visa à introdução de microrganismos mais adaptados às condições de clima e solo, bem como permite a avaliação do grau de compatibilidade e infectividade destes, permitindo a seleção de isolados mais eficientes e adaptados à espécie vegetal em questão. Além disso, permite a avaliação da capacidade e do potencial desses fungos de atuarem na solubilização de nutrientes, como aqueles contidos em rochas.

Para Mullet (1976), o desenvolvimento da tecnologia de produção de inoculantes facilitou o estudo das relações entre fungos micorrízicos e as espécies vegetais a eles associadas. Também contribuiu para a utilização de espécies vegetais ectomicorrízicas na região dos trópicos, principalmente espécies de interesse florestal, destacando-se as pertencentes aos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus*, que necessitam da associação com estes isolados para a sua sobrevivência, visto que nesta região estes não são naturalmente encontrados (MARX; CORDELL, 1989). Após a etapa de seleção de isolados, a avaliação preliminar do inoculante em casa de vegetação é o primeiro passo para os estudos a campo (TRAPPE, 1987).

Os estudos em casa de vegetação podem adotar diferentes estratégias, como definir a composição do substrato, ou a fertilização mais adequada, podendo ser feita com solo natural ou esterilizado, permitindo, desta forma, avaliar ao máximo o potencial dos isolados testados em promover o crescimento vegetal. Pode-se, também, avaliar os parâmetros que afetam o desempenho dos isolados (MARX, 1991).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial e a capacidade de isolados de fungos ectomicorrízicos de solubilizar potássio e fósforo contidos em rochas, e sua influência no crescimento de plantas de *Eucalyptus dunnii*.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Produção de inoculante

Para a produção do inoculante, utilizaram-se culturas matrizes de sete isolados de fungos ectomicorrízicos selecionados no experimento anterior (cf. cap.2): UFSC-Pt22; UFSC-Pt26; CSIRO-H1234; UFSC-Pt145; UFSC-Ch163; UFSC-Pt186 e UFSC-Pt188 (Tabela 1.1).

Os isolados foram cultivados inicialmente em meio de cultura MNM sólido (Anexo D), em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, e incubados a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, durante 20 dias em incubadora BOD. Após este período, retiraram-se discos de 8 mm de diâmetro das extremidades das colônias em crescimento. Os discos foram testados quanto à viabilidade do micélio e ausência de contaminação pela incubação em meio de mesma composição e nas mesmas condições de temperatura durante 48 h. Em seguida, três discos de cada isolado foram inoculados em 25 mL de meio MNM líquido em frascos erlenmeyers de 250 mL de capacidade, sendo incubados nas mesmas condições, durante 21 dias.

Para a produção do inoculante, utilizaram-se 500 mL de uma mistura turfa – vermiculita (1/4 v:v) (Anexo E) em frascos de conserva de 900 mL. Essa mistura foi esterilizada duas vezes por 60 minutos em intervalos de 24 horas em autoclave a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$. Em seguida, adicionaram-se 100 mL meio MNM líquido a cada frasco, sendo a mistura novamente autoclavada durante 20 minutos.

Cada frasco foi inoculado com uma suspensão miceliana obtida pela trituração do micélio proveniente de 3 frascos erlenmeyers, em liquidificador, durante 5 segundos, em 75 mL de meio de cultura líquido. No sétimo dia após a inoculação,

os frascos foram abertos em condições axênicas para a adição de mais 65 mL de meio de cultura MNM líquido. A mistura inoculada foi incubada em estufa B.O.D., a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, durante 60 dias.

Para o tratamento testemunha, utilizou-se o mesmo procedimento sem, no entanto, a adição do micélio fúngico no substrato. Foram preparados quatro frascos da mistura por isolado fúngico, incluindo-se a testemunha.

3.2.2. Produção das plântulas e do substrato de plantio

Utilizou-se como substrato de plantio uma mistura turfa-vermiculita (1:3) (v/v) em tubetes de PVC de 60 mL. Desse volume, 90% compreendiam o substrato de plantio e os 10% restantes, o inoculante.

Para a esterilização, o substrato foi acondicionado em sacos de polietileno, na quantidade de 54 mL de substrato por saco. Em seguida, foi esterilizado em autoclave a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 60 minutos. O procedimento de esterilização foi realizado duas vezes num intervalo de 24 horas.

A mistura esterilizada foi suplementada com 1 mL de solução nutritiva contendo (mg por planta): Mn, 0,15; Mg, 3; Zn, 0,0375; Cu, 0,125; Mo, 0,05; B, 0,05 e Fe, 0,375. A adubação nitrogenada foi adicionada em 5 ocasiões (7 mg por planta), sendo a primeira aplicação aos 15 dias após o plantio, e as demais seguindo o mesmo intervalo de tempo (SOUZA; SILVA FILHO; OLIVEIRA, 2004).

Foram realizados dois experimentos testando-se duas rochas selecionadas no estudo anterior (cf. Cap. 2): brecha alcalina e pó da pedreira saibrita. No experimento em que as rochas foram usadas em substituição à adubação fosfatada, o substrato foi previamente adubado com 1 mL de uma solução contendo 16 mg de

potássio na forma de KCl. No experimento em que se avaliou o potencial das rochas em substituição à adubação potássica, o substrato foi adubado com 0,5 mg de fósforo por planta, na forma de $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Foram utilizadas sementes de *Eucalyptus dunnii* previamente desinfectadas em solução de etanol 70% durante 30s, seguida de três lavagens em água destilada esterilizada. Em seguida, as sementes permanecerem durante três dias em solução de germinação contendo ácido bórico ($3 \mu\text{M}$), glicose (2g L^{-1}) e sulfato de cálcio ($500 \mu\text{M}$), pH 5,7, sob condições de agitação.

3.2.3. Inoculação e condução do experimento

Ao substrato adubado, adicionou-se o inóculo de modo a obter uma proporção de 10% do volume do tubete utilizado (60 mL). O inóculo foi previamente testado quanto a sua viabilidade, pela inoculação prévia de uma amostra de 1g em meio MNM – ágar em placas de Petri, seguindo-se de incubação durante 4 dias a $25^\circ\text{C} \pm 1$ em estufa BOD. O aparecimento de micélio característico do isolado, a partir das partículas de turfa-vermiculita, foi considerado evidência de viabilidade.

Antes de ser misturado ao substrato de plantio, o inóculo foi retirado dos frascos de conserva e homogeneizado manualmente com o uso de luva desinfectada em solução alcoólica 70%. Em seguida, o inóculo foi colocado em peneira com malha de 0,053 mm onde foi lavado delicadamente com 1L de água destilada esterilizada para a eliminação resíduos de meio de cultura. Para o tratamento testemunha, utilizou-se igual proporção da mistura empregada para a produção do inóculo sem, no entanto, conter fungo.

Após a adubação e inoculação, o substrato foi acondicionado nos tubetes

previamente autoclavados por uma hora a $121^{\circ}\text{C} \pm 1$. Em cada tubete foram colocadas aproximadamente 5 plântulas, sendo o substrato de plantio mantido a 80% de sua capacidade de campo, através de rega diária com água destilada esterilizada.

O desbaste deu-se em duas etapas, a primeira na terceira semana após o plantio, onde deixaram-se duas plantas por tubete e, uma semana após, realizou-se o desbaste definitivo, mantendo-se uma planta por tubete.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação por um período de 90 dias, adotando-se um delineamento experimental completamente casualizado, tendo cada combinação isolado-rocha, um total de cinco repetições.

3.2.4. Análise dos Resultados

Após 90 dias de crescimento em casa de vegetação, as plantas foram retiradas dos tubetes e analisadas quanto à altura, peso da matéria seca da parte aérea, peso da matéria seca da raiz, peso da matéria seca total, comprimento radicular, colonização micorrízica e os teores de fósforo e potássio na parte aérea.

O sistema radicular foi cuidadosamente lavado em água corrente para a retirada de substrato, e separado da parte aérea. Em seguida, foi retirada uma amostra de 0,200g, que foi armazenada em frascos contendo solução FAA [5% de formalina, 5% de ácido acético e 90% de uma solução de álcool etílico a 50% (KORMANIK; MCGRAW, 1982)]. O restante do sistema radicular, juntamente com a parte aérea utilizada para a determinação da altura, foi posto a secar em estufa com ventilação forçada, a $70^{\circ}\text{C} \pm 1$, para a determinação do peso de matéria seca.

A determinação dos valores de comprimento radicular e colonização

micorrízica foi efetuada pela técnica das intersecções (Figura 1), proposta por Giovanetti e Mosse (1980), modificada por Brundrett et al. (1996).

Nesta técnica, a amostra do sistema radicular é distribuída de forma aleatória em placas de Petri de 9 cm de diâmetro com fundo quadriculado, com quadrados de $\frac{1}{2}$ polegada quadrada (1,61 cm²). Com o auxílio de lupa binocular (30 x), observaram-se os pontos de intersecção das raízes com as linhas, anotando-se a presença ou ausência de micorrizas nesses pontos. Calculou-se a seguir a porcentagem de colonização. De acordo com a técnica, o comprimento radicular (cm) corresponde ao número de intersecções observadas.

A metodologia utilizada para a determinação do teor dos nutrientes (potássio e fósforo) foi a mesma descrita no capítulo 2. Para isto, o tecido vegetal seco foi moído em moinho de facas de aço inoxidável e, em seguida, homogeneizado, retirando-se uma amostra de 0,200g para a digestão.

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com o auxílio do programa STATGRAPHICS Plus (Manugistics®) para Windows®. Para a análise estatística, os dados de porcentagem de colonização radicular foram transformados em $\sqrt{\%colonization + 0.5}$.

1- Distribuição das raízes aleatoriamente em placa de Petri reticulada em quadrados de 1/2 in.

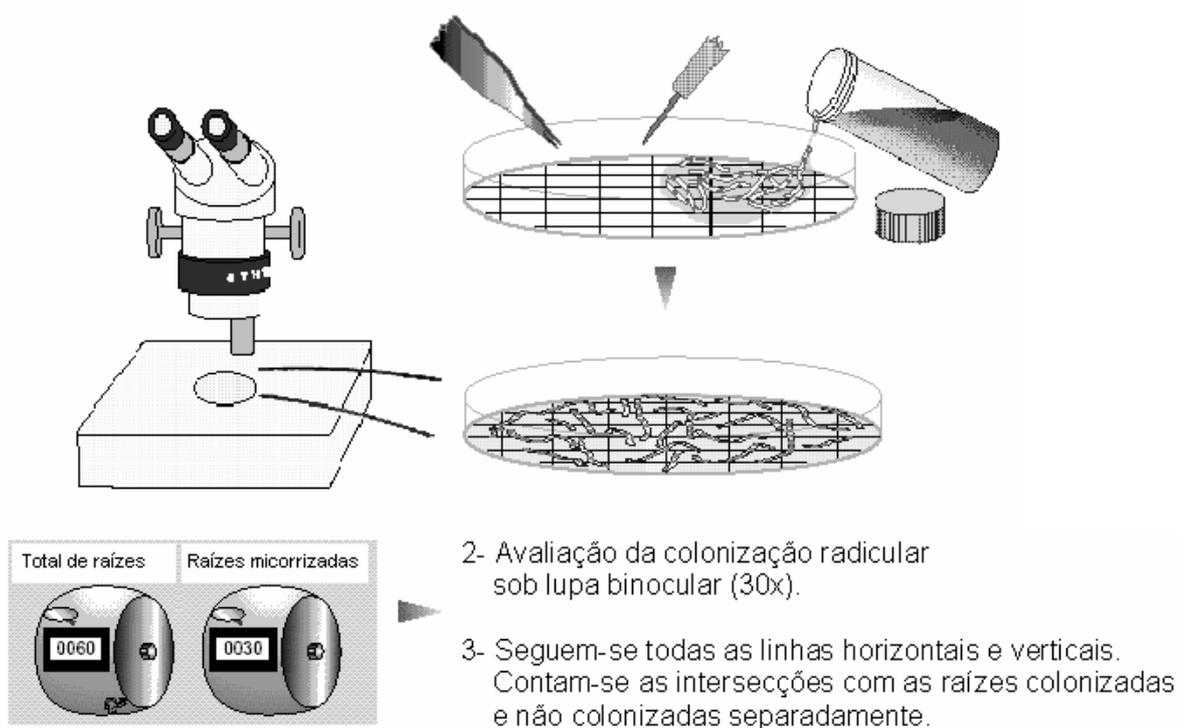


Figura 1. Avaliação da colonização radicular pelo método das intersecções proposto por Giovanetti e Mosse (1980), modificada por Brundrett et al. (1996).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Rochas como fonte de potássio

Observou-se efeito significativo da adição de fontes de potássio e da inoculação com fungo ectomicorrízicos, quando considerados isoladamente, sobre o conteúdo de potássio nos tecidos e os parâmetros de crescimento (altura, matéria

seca e comprimento radicular). A interação entre esses dois fatores, porém, só foi significativa para comprimento radicular e teor de potássio nas plantas (Tabela 3.1).

As plantas tratadas com as fontes de potássio, KCl, brecha alcalina e pó de granito apresentaram altura superior às das plantas testemunhas, sem potássio. Estas últimas eram cerca de 20% menores que as dos demais tratamentos. As plantas que receberam pó da pedreira Saibrita, embora superiores às plantas testemunhas, sem potássio, foram menores que as plantas dos dois primeiros tratamentos. Ainda com relação a este parâmetro, a inoculação com fungos ECM, independentemente do isolado, promoveu maior altura de plantas quando comparada ao tratamento testemunha, sem inoculação.

No que diz respeito à produção de matéria seca, houve um efeito positivo do KCl e da brecha alcalina em relação aos tratamentos com pó da pedreira Saibrita e testemunha sem potássio. Esse efeito se manifestou tanto em relação à matéria seca da parte aérea como em relação à matéria seca de raiz. Em consequência, os resultados de matéria seca total das plantas apresentaram o mesmo padrão. Como no caso da altura de plantas, os dois melhores tratamentos, KCl e brecha alcalina, não diferiram entre si nos valores de matéria seca, mas foram superiores às plantas com pó da pedreira Saibrita, por sua vez, apresentaram maior peso de matéria seca que as plantas sem potássio.

A inoculação com os fungos ectomicorrízicos proporcionou também aumento nos teores de matéria seca das plantas em relação às plantas não inoculadas. Não foram observadas, porém, diferenças entre os tratamentos de inoculação com os diferentes isolados fúngicos. Isso demonstra que os quatro isolados testados são eficientes na promoção do crescimento das plantas.

Tabela 3.1. Crescimento e teor de potássio de mudas de *Eucalyptus dunnii* inoculadas com fungos ectomicorrízicos e adubadas com rochas em substituição à adubação potássica convencional.

Isolados	Fontes de K				Média
	KCl	BA ⁽¹⁾	PSb	Sem K	
Altura (cm por planta)					
Testemunha	21,6	18,1	19,0	15,7	18,6 b
UFSC-Pt22	23,9	27,7	24,4	19,9	24,0 a
CSIRO-H1234	24,3	24,8	24,0	24,2	24,3 a
UFSC-Pt145	23,2	26,3	24,1	18,9	23,1 a
UFSC-Pt186	22,8	25,4	23,3	22,5	23,5 a
Média	23,2 A	24,5 A	23,0 A	20,2 B	
Parte aérea (g por planta)					
Testemunha	1,128	1,010	0,806	0,542	0,872 b
UFSC-Pt22	1,718	1,780	1,228	0,668	1,349 a
CSIRO-H1234	1,678	1,688	1,016	0,874	1,314 a
UFSC-Pt145	1,846	1,602	1,118	0,778	1,336 a
UFSC-Pt186	1,610	1,574	1,054	0,898	1,284 a
Média	1,596 A	1,531 A	1,044 B	0,752 C	
Raiz (g por planta)					
Testemunha	0,358	0,262	0,244	0,150	0,254 b
UFSC-Pt22	0,540	0,626	0,412	0,244	0,456 a
CSIRO-H1234	0,490	0,542	0,332	0,294	0,415 a
UFSC-Pt145	0,534	0,514	0,382	0,220	0,413 a
UFSC-Pt186	0,514	0,540	0,390	0,310	0,439 a
Média	0,488 A	0,497 A	0,352 B	0,244 C	
Total (g por planta)					
Testemunha	1,486	1,272	1,050	0,692	1,125 b
UFSC-Pt22	2,258	2,406	1,640	0,912	1,804 a
CSIRO-H1234	2,168	2,230	1,348	1,168	1,729 a
UFSC-Pt145	2,380	2,116	1,500	0,998	1,749 a
UFSC-Pt186	2,124	2,114	1,444	1,208	1,723 a
Média	2,083 A	2,028 A	1,396 B	0,996 C	
Comprimento radicular (m por planta)					
Testemunha	4,88 baA ⁽²⁾	5,46 bA	3,38 aAB	1,90 aB	3,91 b
UFSC-Pt22	6,99 aB	11,32 aA	5,40 aBC	2,94 aC	6,66 a
CSIRO-H1234	7,14 aAB	8,73 abA	4,99 aB	3,66 aB	6,13 a
UFSC-Pt145	6,61 aAB	7,76 abA	4,69 aAB	3,18 aB	5,56 ab
UFSC-Pt186	6,70 aAB	8,70 abA	6,55 aAB	3,29 aB	6,31 a
Média	6,46 B	8,39 A	5,00 B	2,99 C	
Potássio total (mg por planta)					
Testemunha	4,40 cA	3,00 aB	0,70 aC	0,50 aC	2,10 c
UFSC-Pt22	6,60 bA	2,60 aB	0,90 aC	1,40 aC	2,90 b
CSIRO-H1234	3,70 cA	2,50 aB	1,00 aC	0,90 aC	2,00 c
UFSC-Pt145	10,0 aA	2,60 aB	1,00 aC	1,20 aC	3,70 a
UFSC-Pt186	6,00 bA	2,30 aB	1,30 aBC	0,70 aC	2,60 bc
Média	6,10 A	2,60 B	0,90 C	0,90 C	

⁽¹⁾ BA-Brecha alcalina; PSb- Pó da pedreira Saibrita

⁽²⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Média de cinco repetições.

A adição de KCl e de brecha alcalina promoveu, também, aumento do comprimento radicular em relação ao tratamento sem potássio e ao tratamento com pó de granito. Interessante notar que no caso deste parâmetro, as plantas tratadas com brecha alcalina apresentaram valores superiores em relação às tratadas com KCl. Uma diferença que corresponde a 64%. A brecha alcalina proporcionou um aumento de 180% em relação ao tratamento sem potássio. As plantas do tratamento com pó da pedreira Saibrita apresentaram, também, maior comprimento radicular que as plantas sem potássio mas não diferiram das plantas adubadas com KCl.

As plantas dos tratamentos de inoculação com os isolados UFSC-Pt22, UFSC-Pt186 e CSIRO-H1234 apresentaram maior comprimento radicular que as plantas testemunhas não inoculadas. O isolado UFSC-Pt145, no entanto, não diferiu do tratamento sem inoculação.

Finalmente, verificou-se um efeito positivo do KCl no conteúdo de potássio da parte aérea, seguido pela brecha alcalina, com 6,1 e 2,6 mg K por planta, respectivamente. Esses dois tratamentos diferiram entre si e, também, dos tratamentos com pó da pedreira Saibrita e testemunha não inoculada, ambos apresentando apenas 0,9 mg K por planta.

Verifica-se, assim, que a brecha alcalina representa uma fonte alternativa de potássio com eficiência semelhante à da adubação potássica solúvel (KCl) e superior à apresentada pelo pó da pedreira Saibrita. No caso do comprimento radicular, essa fonte de potássio apresenta-se mesmo superior ao KCl. Entretanto, esse aumento do comprimento radicular não se manifestou na absorção de potássio pelos tecidos, já que o teor de potássio das plantas desse tratamento foi inferior ao das plantas com KCl.

O efeito da inoculação com isolados ECM fez-se sentir nos resultados desse

parâmetro, onde as plantas inoculadas com o isolado UFSC-Pt145 apresentaram o maior teor médio de potássio, seguidas pelas plantas do tratamento UFSC-Pt22. As plantas inoculadas com os isolados CSIRO-H1234 e UFSC-Pt186 não diferiram das plantas testemunhas não inoculadas. O incremento observado foi superior a 100% com a inoculação das plantas com o isolado UFSC-Pt 145 (*Pisolithus* sp.), indicando que ocorreu a absorção de cerca de 60% do potássio adicionado.

Em quase todos os parâmetros analisados verificou-se um efeito positivo da inoculação com fungos ectomicorrízicos, notadamente nos casos da altura de plantas e da produção de matéria seca. Neste último parâmetro, destaca-se o isolado UFSC-Pt22, um *Pisolithus* sp., com resultados 60-80% superiores aos obtidos com as plantas testemunhas sem inoculação.

No que diz respeito ao comprimento radicular, o isolado UFSC-Pt22 proporcionou um aumento da ordem de 70% em relação à testemunha. O maior comprimento radicular das plantas desse tratamento pode ter sido responsável pelos valores elevados de altura e de matéria seca. Também vale ressaltar que esse foi o isolado que apresentou maior intensidade de colonização radicular, fato este que deve ter contribuído para aumentar o comprimento das raízes e, por conseguinte, as taxas de absorção e de crescimento.

Quando aplicado em combinação com a rocha brecha alcalina, as plantas inoculadas com esse isolado apresentaram o maior valor de comprimento radicular observado em todo o experimento, com 11,3m de raiz por planta. Tal valor foi 30% superior ao segundo colocado, o tratamento combinando o isolado CSIRO-H1234 e a mesma rocha, com 8,73m por planta. Embora a interação desses dois fatores nem sempre tenha sido significativa, a aplicação combinada do isolado UFSC-Pt22 e da brecha alcalina apresentou, consistentemente, os maiores valores absolutos na

maioria dos parâmetros analisados, exceto no que concerne ao teor de potássio das plantas.

Existem inúmeros relatos na literatura dos benefícios proporcionados por fungos ectomicorrízicos ao crescimento de plantas, a exemplo de Reddell, Prin e Theodorou (1992). Esses autores obtiveram incrementos entre 50% e 100% na altura de plantas de *Acacia mangium* pela inoculação com isolados de fungos ectomicorrízicos pertencentes aos gêneros *Scleroderma*, *Pisolithus* e *Laccaria*. Andrezza et al. (2004), relatam ganhos superiores a 150% nos valores de peso da matéria seca da parte aérea, e de 70% na altura de mudas de *Eucalyptus grandis* inoculadas com fungos ectomicorrízicos. Yuan et al., (2004), na China, verificaram incrementos na matéria seca de plantas de *Eucalyptus globulus* inoculadas com isolados de *Pisolithus* sp.

Além da translocação de nutrientes para a planta hospedeira, outra forma de promoção do crescimento vegetal proporcionada pelos fECM pode estar relacionada à solubilização de formas insolúveis de elementos nutritivos (OLSSON; WALLANDER, 1998; MAHMOOD et al., 2001) ou à produção de substâncias promotoras do crescimento de plantas, como é o caso de substâncias indólicas (STRZELCZYK; POKOJSKA; KAMPERT, 1992; STRZELCZYK, et al., 1997).

A eficiência do isolado UFSC-Pt22 na promoção do crescimento das plantas de *E. dunnii*, embora intensificada na presença de brecha alcalina, parece ser independente da nutrição potássica uma vez que o teor de potássio das plantas inoculadas com esse isolado foi maior em presença de potássio solúvel (KCl) do que em presença dessa rocha. Esse resultado indica que outro fator presente na brecha alcalina foi melhor aproveitado pelas plantas na presença do UFSC-Pt22. Um estudo mais detalhado da composição dessa rocha poderia esclarecer esse ponto.

Das duas rochas testadas, a brecha alcalina foi, indubitavelmente, a mais adequada para a nutrição potássica e o crescimento das plantas. Essa rocha foi, em muitos casos, superior à própria adubação solúvel (KCl), mostrando-se, assim, promissora para uso rotineiro nos sistemas de produção de mudas.

A porcentagem de colonização radicular (Tabela 3.2) foi baixa quando comparada àquela obtida por outros autores (ALVES et al., 2001; KHASA et al., 2001; SOUZA, 2003; SOUZA; SILVA FILHO; OLIVEIRA, 2004) mas se assemelhou àquela observada por Narloch (2002). Discrepâncias desse tipo são comuns na literatura e podem ser resultantes de diferenças inerentes às técnicas de avaliação.

Tabela 3.2. Colonização radicular de mudas de *Eucalyptus dunnii* inoculadas com fungos ectomicorrízicos e adubadas com rochas em substituição à adubação potássica convencional.

Isolados	Fontes de K				Média
	KCl	BA ⁽¹⁾	PSb	Sem K	
	Colonização radicular (%)				
Testemunha	0	0	0	0	0 c
UFSC-Pt22	1,6	0,6	0,4	1,6	1,1 a
CSIRO-H1234	0	0	0	0	0 c
UFSC-Pt145	0	0	0	0	0 c
UFSC-Pt186	0,8	0,4	1	0,8	0,8 b
Média	0,5 A ⁽²⁾	0,2 A	0,3 A	0,5 A	

⁽¹⁾ BA-Brecha alcalina; PSb- Pó da pedreira Saibrita

⁽²⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Média de cinco repetições.

A técnica das intersecções (GIOVANETTI; MOSSE, 1980), baseia-se na detecção de micorrizas nos pontos de interseção de quadrículas uniformes desenhadas no fundo de placas de Petri. Já na técnica de contagem de pontas de raízes, a detecção é realizada de forma direta, através da observação das pontas de raízes selecionadas através da observação sob lupa binocular. A técnica das intersecções, em relação à contagem de pontas de raízes, pode sofrer influência do grau de homogeneização da amostra na placa, necessária para o procedimento de

contagem, o que pode contribuir para a subestimação do número de micorrizas.

Outro fato potencialmente responsável pelos baixos índices de colonização, ou mesmo, a ausência de colonização radicular detectável, pode estar relacionado ao processo de separação das raízes do substrato de plantio e lavagem, o que pode ter ocasionado a perda de micorrizas.

Não se pode descartar, porém, que esses níveis de colonização sejam resultantes de uma baixa infectividade dos isolados nas condições deste estudo. A baixa colonização detectada (Figura 2) não impediu, porém, a promoção de benefícios às plantas, particularmente no caso do isolado UFSC-Pt22.

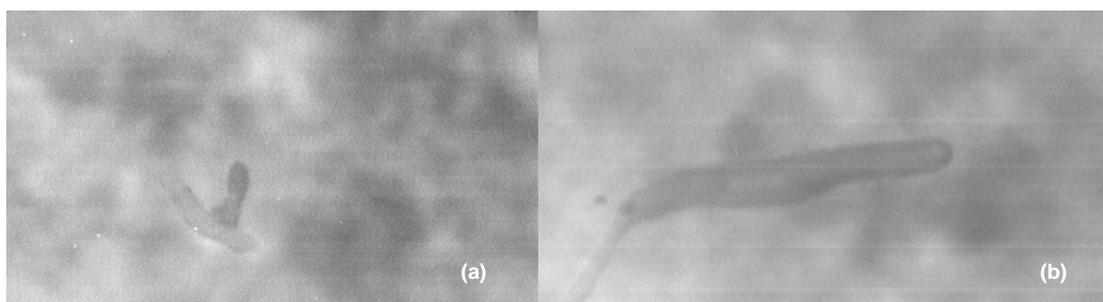


Figura 2. Ectomicorrizas formadas em mudas de *Eucalyptus dunnii* adubadas com rochas em substituição a adubação potássica convencional pelos isolados UFSC-Pt22, *Pisolithus* sp. (a) e UFSC-Pt186 *Pisolithus microcarpus* (b).

Os benefícios observados no caso de isolados que não produziram níveis detectáveis de colonização, como no caso do isolado UFSC-Pt145, podem ser atribuídos a fatores ocorridos durante o período de vida saprofítica do micélio no substrato de plantio. Apesar de pouco relatado, existem na literatura trabalhos citando a sobrevivência de isolados de fungos ectomicorrízicos em condições saprofíticas por até 23 semanas em substrato mantido à capacidade de campo (BRULÉ et al., 2001).

Nesse período que antecedeu à colonização pode ter havido a solubilização

do potássio presente nas fontes adicionadas ao substrato de plantio devido à liberação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, a exemplo do ácido oxálico, responsável, pela solubilização de nutrientes de fontes inorgânicas (PARIS; BOTTON; LAPEYRIE, 1996; WALLANDER, 2000a; HOFFLAND et al., 2004).

Além disso, os resultados obtidos não podem ser atribuídos somente ao efeito nutricional direto promovido pelos isolados de fECM através da absorção/solubilização do potássio presente nas fontes utilizadas. A produção de substâncias promotoras do crescimento, como os hormônios vegetais, pode ter contribuído para um maior crescimento, como foi demonstrado por Niemi et al. (2002). Esses autores verificaram a produção de ácido indol-3-acético por isolados de *Pisolithus tinctorius* e *Paxillus involutus*, e que a presença do fungo no substrato de plantio estimulava a formação e o crescimento das raízes, em comparação com o tratamento utilizando somente filtrado de culturas, indicando que outros componentes liberados por esses microrganismos, desempenham um papel fundamental nos benefícios promovidos.

Os resultados obtidos no presente estudo também mostraram que a porcentagem de colonização alcançada foi inferior àquela obtida por Bougher; Grove e Malajczuk (1990), com dois isolados de *Descolea maculata* (9,8 e 14,4%), porém superiores ao isolado de *Pisolithus* por eles investigado, que não colonizou as plantas de *Eucalyptus diversicolor*. Já Alves et al. (2001), obtiveram uma colonização superior à verificada no presente estudo, ao inocular plantas de *E. dunnii* com um isolado de *Pisolithus* sp. (UFSC-Pt24). Porém, apesar de a colonização ter sido maior no experimento desses autores, as plantas tiveram valores de altura semelhantes aos alcançados no presente estudo.

Esses resultados demonstram a necessidade de estudos mais aprimorados

visando a determinação dos mecanismos utilizados e os fatores que afetam a solubilização dos nutrientes contidos em rochas por isolados de fungos ectomicorrízicos.

3.3.2. Rochas como fonte de fósforo

Os resultados do estudo sobre a solubilização de fósforo a partir das rochas assemelham-se aos obtidos no estudo anterior (cf. item 3.3.1), onde as rochas foram comparadas à adubação potássica convencional

Efeitos de isolados e rochas foram observados em relação à altura, peso da matéria seca da parte aérea, peso da matéria seca da raiz, peso da matéria seca total, comprimento radicular e teor de fósforo na parte aérea. Observaram-se interações significativas entre esses dois fatores (inoculação e rochas), em todos os parâmetros analisados (Tabela 3.3).

Na maioria dos parâmetros analisados, as fontes de fósforo promoveram o crescimento das plantas de *Eucalyptus dunnii*, sendo este efeito observado com maior frequência nos tratamentos adubados com $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e brecha alcalina. A brecha alcalina, isoladamente, foi responsável por incrementos médios, em relação ao tratamento sem fósforo, de cerca de 44% e de um aumento de 31% em relação à fonte solúvel $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$.

A inoculação das plantas com os isolados fúngicos ectomicorrízicos também promoveu efeitos significativos em todos os parâmetros, quando considerada isoladamente. Destaca-se neste caso o isolado UFSC-Pt186, apresentando uma tendência a superar os demais isolados em quase todos os parâmetros de crescimento: matéria seca da parte aérea e total, e comprimento radicular. Esse isolado só foi superado no caso

Tabela 3.3. Crescimento e teor de fósforo de mudas de *Eucalyptus dunnii* inoculadas com fungos ectomicorrízicos e adubadas com diferentes fontes de fósforo em substituição à adubação fosfática convencional.

Isolados	Fontes de P					Média
	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·2H ₂ O	BA ⁽¹⁾	PSb	Sem P		
			Altura (cm)			
Testemunha	21,6 aA ⁽²⁾	23,1 aA	16,0 bB	15,5 cB	19,0 b	
UFSC- Pt26	24,8 aA	24,6 aA	20,3 abAB	18,9 bcB	22,1 a	
UFSC-Ch163	24,8 aA	22,4 aA	23,7 aA	22,5 abA	23,3 a	
UFSC-Pt186	22,9 aA	26,0 aA	24,4 aA	23,5 abA	24,2 a	
UFSC-Pt188	23,5 aA	24,2 aA	23,9 aA	25,6 aA	24,3 a	
Média	23,5 AB	24,0 A	21,6 BC	21,2 C		
			Parte aérea (g pl ⁻¹)			
Testemunha	1,128 bA	1,358 bA	0,412 bB	0,294 bB	0,798 b	
UFSC-Pt 26	1,692 abA	1,850 abA	1,036 bB	0,950 aB	1,382 a	
UFSC-Ch163	1,720 aA	1,750 abA	1,238 aA	1,490 aA	1,550 a	
UFSC-Pt186	1,610 abB	2,310 aA	1,382 aB	1,218 aB	1,630 a	
UFSC-Pt188	1,916 aA	1,522 bAB	1,260 aB	1,304 aB	1,501 a	
Média	1,613 A	1,758 A	1,066 B	1,051 B		
			Raiz (g pl ⁻¹)			
Testemunha	0,358 bB	0,540 aA	0,154 bC	0,196 bC	0,312 b	
UFSC-Pt26	0,520 aA	0,518 aA	0,368 aB	0,344 abB	0,438 a	
UFSC-Ch163	0,454 abA	0,524 aA	0,418 aA	0,452 aA	0,462 a	
UFSC-Pt186	0,514 aAB	0,586 aA	0,418 aB	0,406 aB	0,481 a	
UFSC-Pt188	0,506 abA	0,570 aA	0,442 aA	0,488 aA	0,502 a	
Média	0,470 B	0,548 A	0,360 C	0,377 C		
			Total (g pl ⁻¹)			
Testemunha	1,486 bA	1,898 bA	0,566 bB	0,490 cB	1,110 b	
UFSC-Pt26	2,212 aA	2,368 abA	1,404 aB	1,294 bB	1,820 a	
UFSC-Ch163	2,174 aAB	2,274 abA	1,656 aB	1,942 aAB	2,012 a	
UFSC-Pt186	2,124 aB	2,896 aA	1,800 aB	1,624 abB	2,111 a	
UFSC-Pt188	2,422 aA	2,092 bAB	1,702 aB	1,792 abB	2,002 a	
Média	2,084 A	2,306 A	1,426 B	1,428 B		
			Comprimento radicular (m)			
Testemunha	4,88 aAB	6,98 aA	2,36 bB	2,09 bB	4,08 b	
UFSC-Pt26	7,45 aA	6,26 aA	5,50 abA	5,15 abA	6,09 a	
UFSC-Ch163	5,74 aA	6,56 aA	5,37 abA	7,83 aA	6,38 a	
UFSC-Pt186	6,70 aA	9,14 aA	6,65 aA	6,12 aA	7,15 a	
UFSC-Pt188	8,34 aA	7,57 aA	5,84 abA	6,35 aA	7,03 a	
Média	6,62 AB	7,30 A	5,14 B	5,51 B		
			Fósforo na parte aérea (µg pl ⁻¹)			
Testemunha	81,98 aA	63,56 abA	18,20 bB	12,81 cB	44,14 c	
UFSC-Pt26	62,83 aA	52,45 bcA	68,85 aA	58,95 bA	60,77 b	
UFSC-Ch163	76,36 aAB	87,50 aAB	64,03 aB	105,27 aA	83,29 a	
UFSC-Pt 186	71,49 aA	74,39 abA	65,84 aA	56,98 bA	67,17 ab	
UFSC-Pt188	85,14 aA	22,59 cC	49,89 abBC	79,70 abAB	59,33 bc	
Média	75,56 A	60,10 B	53,36 B	62,74 AB		

⁽¹⁾ BA-Brecha alcalina; PSb- Pó da pedreira Saibrita

⁽²⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Média de cinco repetições.

do teor de fósforo na parte aérea, onde se observou um melhor efeito do isolado UFSC-Ch163. Mesmo assim, não houve diferença significativa entre esses dois tratamentos. Entretanto, enquanto que o tratamento com o isolado UFSC-Ch163 apresentou-se superior a todos os demais tratamentos no que concerne ao teor de P nos tecidos, as plantas inoculadas com o UFSC-Pt186 não diferiram das plantas inoculadas com os outros dois isolados.

A combinação do isolado UFSC-Pt186 com a brecha alcalina proporcionou os maiores valores de altura, matéria seca e comprimento radicular que as demais combinações entre os fatores inoculação e adubação.

Em relação aos valores de fósforo na parte aérea, as plantas que receberam adubação solúvel convencional $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ apresentaram, em média, maiores valores desse elemento em seus tecidos, tendo sido superiores às plantas que receberam adubação com as rochas. Entretanto, não foram verificadas diferenças significativas entre as fontes de fósforo utilizadas e a testemunha não fertilizada.

O efeito da inoculação neste último caso caracterizou-se, principalmente, pela maior acumulação de fósforo nas plantas inoculadas com o isolado UFSC-Ch163. Esse isolado parece apresentar uma alta eficiência na translocação de P para a planta hospedeira como já tinha sido notado por Souza (2003) e Souza, Silva Filho e Oliveira (2004). Esses autores verificaram que esse isolado estava entre os mais eficientes na promoção do crescimento de plantas de *E. dunnii*, sob condições de casa de vegetação, na presença de uma fonte solúvel de P.

O maior valor de fósforo na parte aérea foi observado nas plantas inoculadas com esse isolado e sem adubação fosfatada, com 105 µg por planta, seguidas das plantas inoculadas com o mesmo isolado e adubadas com brecha alcalina,

apresentando 87,5 µg por planta. Considerando-se isoladamente o efeito deste fungo, obteve-se uma média de 83 µg por planta, uma diferença considerável com relação às plantas testemunhas não inoculadas, apresentando uma média de apenas 44 µg por planta. Assim, repete-se aqui uma tendência observada no experimento anterior sobre as fontes de potássio (cf. item 3.1), onde o isolado que proporcionou maior acumulação do elemento não foi aquele que proporcionou os efeitos mais notáveis nos parâmetros de crescimento.

Nas plantas inoculadas com o isolado UFSC–Pt186, os valores de peso da matéria seca da parte aérea e peso da matéria seca total foram 90% superiores em relação à testemunha não inoculada. Já nos valores de altura e peso da matéria seca da raiz, o isolado UFSC-Pt188 promoveu um incremento médio superior a 44% em relação ao tratamento testemunha sem inoculação.

Ganhos superiores a 70% nos valores de comprimento radicular em relação à testemunha não inoculada, foram obtidos com os isolados UFSC–Pt 186 e UFSC-Pt 188, ambos com cerca de 7m de comprimento de raízes.

Interessante ressaltar que embora a inoculação com os isolados UFSC-Pt26 e UFSC-Pt188 não tenha resultado em aumento significativo nos teor de fósforo em relação ao tratamento testemunha não inoculado, esses tratamentos promoveram aumento nos parâmetros de altura, matéria seca e comprimento radicular. Essa observação reforça a hipótese do envolvimento de mecanismos outros que o fornecimento de fósforo influenciando positivamente o crescimento das plantas de *Eucalyptus dunnii*.

A superioridade nos teores de P no tecido vegetal, nos tratamentos sem fósforo adicional, das plantas inoculadas em relação às plantas testemunhas não inoculadas, apontam uma possível ação dos isolados de fECM na mineralização do

fósforo presente principalmente na turfa adicionada ao substrato de plantio. Isto pode ser atribuído à produção de enzimas fosfatases por esses fungos, como já observado por Tam e Griffiths (1993).

Observou-se que a porcentagem de fósforo nos tecidos apresentou valores inferiores aos valores de referência fornecidos por Tedesco et al. (1995). Esses autores consideram que os níveis de P nas plantas devem variar entre 0,08 e 1,5%. No presente experimento, os valores médios nos tecidos de *Eucalyptus dunnii* ficaram em 0,004%, com uma recuperação média - considerando-se somente as interações positivas - de 14,5%. Demonstra-se, desta forma, a existência de outros mecanismos de promoção de benefícios, além do fornecimento de nutrientes das fontes inorgânicas testadas, conforme já foi comentado no item anterior.

Com relação à colonização radicular (Tabela 3.4), os isolados UFSC-Pt186 e UFSC-Pt188 apresentaram, respectivamente 0,8% e 9,4% das raízes colonizadas (Figura 3). Nos demais tratamentos, incluindo-se a testemunha não inoculada, não foi observada a presença de micorrizas. A ausência de colonização micorrízica nas plantas do tratamento testemunha sem inoculação indica ausência de contaminação e, portanto, uma boa condução do experimento.

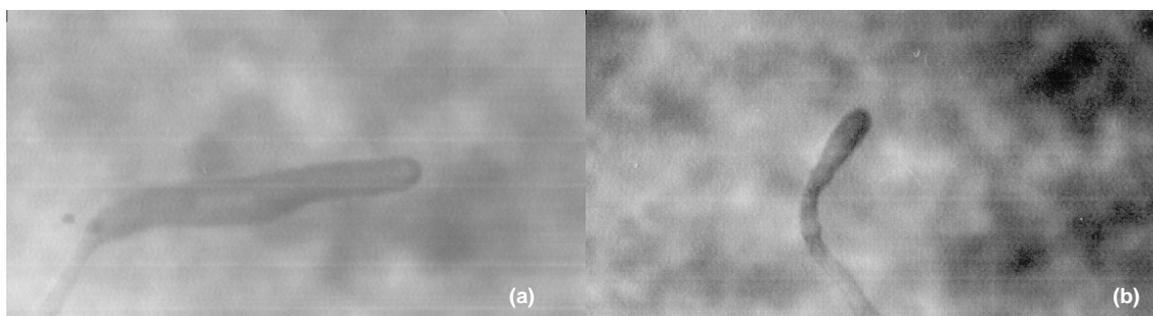


Figura 3. Ectomicorrizas formadas em mudas de *Eucalyptus dunnii* adubadas com rochas em substituição a adubação fosfática convencional pelos isolados UFSC-Pt 186 (a) e UFSC-Pt188 (b), pertencentes a espécie *Pisolithus microcarpus*.

Tabela 3.4 Colonização radicular de mudas de *Eucalyptus dunnii* inoculadas com fungos ectomicorrizicos e adubadas com rochas em substituição à adubação fosfática convencional.

Isolados	Fontes de P				Média
	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·2H ₂ O	BA ⁽¹⁾	PSb	Sem P	
	Colonização radicular (Arc sen. %)				
Testemunha	0 cA ⁽²⁾	0 cA	0 cA	0 cA	0 c
UFSC-Pt26	0 cA	0 cA	0 cA	0 cA	0 c
UFSC-Ch163	0 cA	0 cA	0 cA	0 cA	0 c
UFSC-Pt186	0,8 bcA	0,8 bcA	0,6 bcA	1,0 bcA	0,8 b
UFSC-Pt188	15,6 aA	7,0 aB	11,2 aB	3,8 aC	9,4 a
Média	3,8 A	1,6 AB	2,4 AB	0,1 B	

⁽¹⁾ BA-Brecha alcalina; PSb- Pó da pedreira Saibrita

⁽²⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Média de cinco repetições.

A ausência de colonização radicular nas plantas inoculadas com os isolados UFSC-Pt26 e UFSC-Pt163 não se deve à viabilidade do inoculante, visto que este apresentou-se viável em teste realizado imediatamente antes da inoculação do substrato de plantio (Figura 4). Assim, fatores inerentes à infectividade dos isolados ou à própria técnica de avaliação, podem ser responsáveis pelos baixos níveis de colonização observados, como já comentado na discussão dos resultados do experimento descrito anteriormente.

Os valores de colonização radicular obtidos com o isolado UFSC-Pt188 se aproximam dos valores observados por Souza (2003) para esse mesmo isolado. Esse autor, obteve 10,5% de colonização para plantas de *Eucalyptus dunnii*, utilizando a mesma técnica para a determinação da colonização radicular, mas em presença de fonte solúvel de P.

O resultado positivo em relação aos valores de colonização radicular promovidos pelo isolado UFSC-Pt188 não se refletiu em relação aos valores de fósforo total nas plantas de *Eucalyptus dunnii*. Narloch (2002) e Souza (2003), avaliando isolados de fECM pertencentes à coleção da UFSC, também não verificaram uma relação direta entre os valores de colonização radicular e os teores

de fósforo total para plantas de *Pinus taeda* e *Eucalyptus dunnii*, respectivamente.

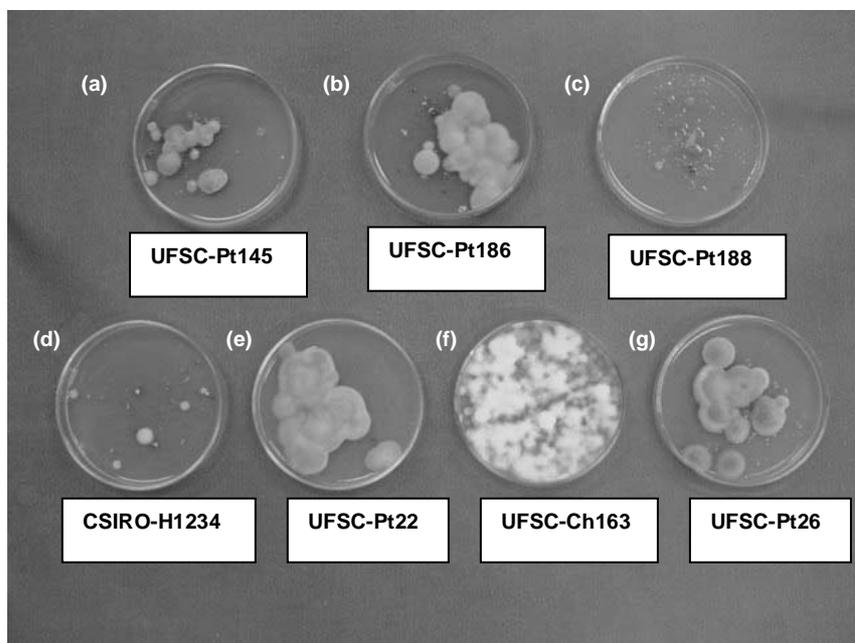


Figura 4. Viabilidade de inoculante ectomicorrízico após 60 dias de crescimento em substrato sólido. (a) *Pisolithus* sp. (b) *Pisolithus microcarpus* (c) *Pisolithus microcarpus*. (d) *Pisolithus* sp. (e) *Pisolithus* sp. (f) *Chondrogaster angustisporus* (g) *Pisolithus* sp.

Esses resultados, indicam a existência de outros efeitos promovidos pelos fungos ectomicorrízicos, além da solubilização do fósforo contido nas fontes testadas, na promoção do crescimento das plantas de *Eucalyptus dunnii*. Esse efeito pode ser atribuído à produção de substâncias indólicas promotoras do crescimento vegetal, como os hormônios e outros reguladores de crescimento (SLANKIS, 1973; GRAHAM; LINDERMAN, 1981; SMITH; READ, 1997, NARLOCH, 2002).

Os resultados gerais observados em relação aos valores de fósforo total indicam uma baixa eficiência dos isolados testados em solubilizar o fósforo das fontes testadas, como demonstrado pela baixa recuperação do elemento adicionado ao substrato de plantio, tendo o valor máximo observado tendo sido de 21% para as plantas inoculadas com o isolado UFSC-Ch163.

Mesmo assim, a combinação de certos isolados com a brecha alcalina promoveu aumentos significativos no crescimento das plantas como ficou demonstrado nos resultados de altura, matéria seca e comprimento de raízes. Como discutido para as fontes de potássio, vários são os relatos na literatura dos benefícios proporcionados pela inoculação de fungos ectomicorrízicos no crescimento de plantas (REDDELL; PRIN; THEODOROU, 1992; JONES, DURALL; TINKER, 1998; ANDREAZZA et al., 2004; YUAN et al., 2004), indicando o potencial do uso dessa tecnologia para o aumento da produção florestal.

CONCLUSÕES

- A brecha alcalina é uma alternativa à adubação convencional no suprimento de fósforo e potássio para as plantas de *Eucalyptus dunnii*.
- Considerando-se os baixos teores de fósforo presentes no pó da pedreira saibrita, pode-se conferir aos isolados de fungos ectomicorrizicos UFSC-Ch163 e UFSC-Pt186, um elevado potencial de solubilização do elemento presente nesta fonte.
- A solubilização de potássio e fósforo, por si só, não é o único mecanismo utilizado por esse fungos para aumentar o crescimento das plantas.
- Os isolados de fungos ectomicorrízicos, notadamente o isolado UFSC-Pt22 podem melhorar a eficiência da brecha alcalina no suprimento de potássio, e o isolado UFSC-Pt186 a de fósforo, às plantas de *Eucalyptus dunnii*, promovendo benefícios ao crescimento.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Os processos biotecnológicos permitem a seleção e a utilização de microrganismos eficientes na solubilização de nutrientes contidos em rochas para a utilização em sistemas agrícolas. Isto pode contribuir, de forma significativa, para a minimização dos impactos negativos provocados pelo uso crescente de fontes solúveis de fósforo e potássio.

Os resultados obtidos neste estudo, demonstram o potencial da utilização de isolados de fungos ectomicorrízicos no suprimento desses nutrientes a partir de rochas para o crescimento de plantas de *Eucalyptus dunnii*. Desta forma, poderão contribuir para a preservação e a utilização racional dos recursos naturais, possibilitando, ao mesmo tempo, a manutenção da produção de alimentos e de matérias primas necessárias à sociedade.

A seleção de microrganismos - o objetivo principal deste trabalho - mostra-se essencial para a utilização destes de forma mais eficiente, bem como possibilita o estudo e a análise das variáveis que possam estimular ou inibir o potencial desses organismos em proporcionar benefícios às plantas.

Novos estudos, avaliando outros fatores, como a composição do substrato, formas de inoculação, e testes em solo não esterilizado, fazem-se necessários para a aplicação rotineira de fungos ectomicorrízicos em sistemas florestais.

REFERÊNCIAS

ALCARDE, J.C.; PONCHIO, C.O. Conteúdo de “carbonato ligado” em fosfatos naturais brasileiros. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Campinas, v.7, p. 341-343, 1983.

ALEXANDER, M. **Introducción a la microbiología del suelo**. México: Libros y Editoriales, 1980. 491p.

ALVES, L.; MENDOZA, E.A.; SILVA FILHO, G.N. Microrganismos solubilizadores de fosfatos e o crescimento de Pínus e Eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas**, v.26, n.4, p. 939-947, out./dez. 2002.

ALVES, J.R., et al. Efeito de inoculante ectomicorrízico produzido por fermentação semi-sólida sobre o crescimento de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n.2, p.307-313, fev. 2001.

ANDRADE, L.R.M., et al. Carbonatites as a natural nutrients source for cerrado soil fertilization. EMBRAPA Cerrados, Planaltina-DF, 2002 paper n. 691, p. 14-22. Disponível em <<http://www.idd.go.th/wcss2002/papers/0691.pdf>> Acessado em 30/08/2005

ANDREAZZA, R. et al. Espécies de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Meiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.14. n. 2, p.51-59, 2004.

ARBIETO, E.A.M. **Biodisponibilização de nutrientes de rochas por microrganismos do solo**. 2005. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

AROCENA, J.M.; GLOWA, K.R. Mineral weathering in ectomycorrhizosphere of subalpine fir (*Abies lasiocarpa* (HOOK.) Nutt.) as revealed by soil solution composition. **Forest Ecology and Management**, v. 133, p. 61-70, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRESERVADORES DE MADEIRA. **O setor florestal**. Disponível em <www.abpm.com.br/setor_florestal.htm> Acessado em Setembro 2004.

BELLEI, M.M.; CARVALHO, E.M.S. Ectomicorrizas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992, p.297-318.

BENITE, A.M.C.; MACHADO, S.P. Sideróforos: Uma resposta dos microrganismos. *Química Nova*, Vol. 25, n. 6b, p. 1155-1164, 2002.

BIGARELA, J.J.; BECKER, R.D.; SANTOS, G.F. **Estrutura e origem das paisagens tropicais e subtropicais**. Fundamentos geológicos-geográficos, alteração química e físicas das rochas, relevo cárstico e dômico. Florianópolis, Editora da UFSC, 1994, v.1, 425p.

BIGELIS, R.; ARORA, D. Organic acids of fungi. In: ARORA, D.K.; ELANDER, R.P.; MUKERJI, K.G. **Handbook of Applied Mycology**. Fungal Biotechnology. New York: Marcel Dekker, 1992. v.4, p. 357-376.

BOLLAND, M.D.A.; BAKER, M.J. Powdered granite is not an effective fertilizer for clover and wheat in sandy soils from western Australia. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, New York, v. 56, n. 1, p. 59-68, 2000.

BOUGHER, N.L.; GROVE, T.S.; MALAJCZUK, N. Growth and phosphorus acquisition of karri (*Eucalyptus diversicolor* B. Muell) seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in relation to phosphorus supply. **New Phytologist**, New York, v. 114, n. 1, p. 77-85, 1990.

BRACELPA. **Desempenho do setor florestal em 2004**. Disponível em <www.bracelpa.org.br> acessado em Junho de 2005.

BREEMEN, N.V.; LUNDSTRÖM, U.S.; JONGMANS, A.G. Do plants drive podzolization via rock-eating mycorrhizal fungi? **Geoderma**, v. 94, p. 163-171, 2000.

BRULÉ, C.; et al. Survival in the soil of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* and the effects of a mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 1683-1694, 2001.

BRUNDRETT, M.C.; et al. **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: ACIAR, 1996. 374 p.

BRUNNER, I. Ectomycorrhizas: their role in forest ecosystems under the impact of acidifying pollutants. **Perspectives in plant ecology evolution and systematics**, Zurich, v. 4, n. 1, p. 13-27, 2001.

CASTELLANO, M.A. Outplanting performance of mycorrhizal inoculated seedlings: a review. In: 8th NACM. Univ. of Wyoming, Jackson, Wyoming, 1990.

CHILVERS, G.A. Some distinctive types of Eucalypt mycorrhiza. **Australian Journal of Botany**, Victoria, v. 16, n. 1, p. 49-70, março, 1968.

COMIN-CHIARAMONTI, P. et al. Geochemistry and geodynamic implications of the Anitópolis and Lages alkaline-carbonatite complexes. Santa Catarina State, Brazil. **Revista Brasileira de Geociências**, v.32, n.1. p. 43-58, 2002.

COUTINHO, E.L.M. et al. Eficiência agrônômica de fertilizantes fosfatados para a cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Campinas**, v. 26, n. 9, p. 1393-1399, set. 1991.

DESSUREAULT, M.; SAMSON, J.; MORIN, C. Protection of black spruce seedlings against *Cylindrocladium* root rot with ectomycorrhizal fungi. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 77, p. 169-174, 1999.

EMBRAPA. **Zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado de Santa Catarina**. Curitiba: EMBRAPA, 1988. 113 p.

_____. **Planilha de custos de produção de mudas**. Centro Nacional de Pesquisas de Florestas. Colombo-PR: EMBRAPA, 2005. Disponível em <www.cnpf.embrapa.br>. Acessado em 14/11/2005.

_____. **CNPF Zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado do Paraná**. Brasília: EMBRAPA/DDT, 1986. 89 p.

FRANK, B. On the root – symbiosis – depending nutrition through hypogeous fungi of certain trees. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 3, p. 128-145, 1885. Tradução de J.M. Trappe. In: **Proceedings of the 6th North American conference on mycorrhizae**, Bend: Oregon State University, 1985. p. 25-29.

GADD, G.M. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. **Adv. Microbial. Physiol.**, v. 41, p. 33-43, 1999.

_____ et al. Survival in the soil of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* and the effects of a mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 33, p. 1683-1694, 2001.

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

GODBOLD, D.L.; WINTER, S.; JENTSCHKE, G. Ectomycorrhizas and cadmium toxicity in Norway spruce seedlings. **Tree Physiology**, Victoria, v. 19, p. 23-30, 1997.

GOEDE, R.G.M.; KUYPER, T.W.; BRUSSAARD, L. On the relationships between nematodes, mycorrhizal fungi and plants: functional composition of species and plant performance. **Plant and Soil**, v. 232, p. 155-165, 2001.

GOMES, N.C.; OLIVEIRA, V.L.; SILVA FILHO, G.N. Solubilization of natural phosphates by ectomycorrhizal fungi from *Eucalyptus* sp. In: THE INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF MANAGEMENT OF MYCORRHIZAS IN AGRICULTURE, HORTICULTURE AND FORESTRY, 1992, Perth, Western Australia, **Abstracts**: Perth, the Australian Institute of Agricultural Science, 1992. p.58.

GOODMAN, D.M. et al. **A manual of concise descriptions of North American ectomycorrhizae**. Ottawa: Mycologue Publications, 1996/1998. 75p.

GRAHAM, J.H.; LINDERMAN, R.G. Effect of ethylene on root growth, ectomycorrhiza formation, and fusarium infection of Douglas-fir *Pseudotsuga menziesii*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 2, p. 149-155, 1981.

HARLEY, A.D.; GILKES, R.J. Factors influencing the release of plant nutrient elements from silicate rock powders: a geochemical overview. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 56, p. 11-36, 2000.

HARVEY, L.M. Cultivation techniques for the production of ectomycorrhizal fungi. **Biotech. Adv.**, v. 9, p. 13-29, 1991.

HASELWANDTER, K. Mycorrhizal fungi. Siderophore production. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 15, p. 287-291, 1995.

HOFFLAND, E. Quantitative evaluation of the role of organic acid exudation in the mobilization of rock phosphate by rape. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 140, p. 279-289, 1992.

_____; et al. The role of fungi in weathering. **Frontiers Ecology Environment**, v. 2, n. 5, p. 258-264, 2004.

_____; FINDENEGG, G.R.; NELEMANS, J.A. Solubilization of rock phosphate by rape. I. Evaluation of the role of the nutrient uptake pattern. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 113, p. 155-160, 1989.

INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA. Desempenho do Setor Florestal. In: **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina – 2003-2004**. Florianópolis: Instituto CEPA/SC, 2004. 377 p.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 8. ed. São Paulo: Ed. Nacional, 1977. 777 p.

JONES, M.D.; DURALL, D.M.; TINKER, P.B. A comparison of arbuscular and ectomycorrhizal *Eucalyptus coccifera*: growth response, phosphorus uptake efficiency and external hyphal production. **New Phytologist**, New York, v. 140, p. 125-134, 1998.

JUVENAL, T.L.; MATTOS, R.L.G. **Painéis de madeira reconstituída**. Brasília: BNDES, 2002. 21p.

KAMINSKI, J.; PERUZZO, G. **Eficácia de fosfatos naturais reativos em sistemas de cultivo**. Núcleo Regional Sul da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Santa Maria-RS, Boletim Técnico n.3, 31 p. 1997.

KHASA, P.D.; et al. Effect of fertilization on growth and ectomycorrhizal development of container-grown and bare-root nursery conifer seedlings. **New Forests**, Dordrecht, v. 22, p. 179-197, 2001.

KHASAWNEH, F.E.; DOLL, E.C. The use of phosphate rock for direct application to soils. **Adv. Agron.**, v. 30, p. 159-206, 1978.

KOIDE, R.T.; KABIR, Z. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *glomus intraradice* can hydrolyse organic phosphate. **New Phytologist**, New York, v. 148, n.3, p. 511-517, 2000.

KORMANIC, P.P.; MCGRAW, A.C. Quantitative of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: SCHENK, N.C. (eds.). **Methods and principles of mycorrhizal research**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1982. p. 37-45.

LANDEWEERT, R. et al. Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 16, n. 5, p. 248-254, maio 2001.

LAPEYRIE, F.; RANGER, J.; VAIRELLES, D. Phosphate solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi *in vitro*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 69, p. 342-346, 1991.

LIMA, W.P. **Impacto ambiental do Eucalipto**. 2. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1993. 301 p.: il.

LIU, Q.; LOGANATHAN, P.; HEDLEY, M.J. Influence of ectomycorrhizal hyphae on phosphate fractions and dissolution of phosphate rock in rhizosphere soils of *Pinus radiata*. **Journal of Plant Nutrition**, New Zealand, v. 28, p. 1525-1540, 2005.

MACHADO, F.B. et al. **Enciclopédia Multimídia de Minerais e Atlas de Rochas**. Disponível em <WWW. URL: <http://www.rc.unesp.br/museudpm>.> Acessado em 22 de Dezembro de 2005.

MAHMOOD, S.; et al. Solubilization and colonisation of wood ash by ectomycorrhizal fungi isolated from a wood ash fertilised spruce forest. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 35, p. 151-161, 2001.

MARCHIORI, J.N.C.; SOBRAL, M. **Dendrologia de Angiospermas: Myrtales**. Santa Maria: Ed. da Universidade Federal de Santa Maria, 1997. 199p.

MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. In: ROBSON, A.D.; ABBOT, L.K.; MALAJCZUK, N. (eds.). **Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994, p. 89-102.

MARX, D.H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, St. Paul, v. 59, n. 2, p.153-163, 1969.

_____. The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment. In: **Ecophysiology of ectomycorrhizae of forest trees**. Symposia proceedings: 7. Stockholm, 1991. p. 54-90.

_____; CORDELL, C.E. The use of specific ectomycorrhizal to improve artificial forestation practices. In: WHIPPS, J.M.; LUMSDEN, R.D. (eds) **Symposium of the British Mycological Society the University of Sussex**. Cambridge, 1989, p. 1-25.

_____; MAUL, S.B.; CORDELL, C.E. Application of specific ectomycorrhizal fungi in world forestry. In: LEATHAM, G.F., ed. – **Frontiers in industrial mycology**. New York, Chapman & Hall, 1992. p. 78-98.

_____; RUEHLE, J.L.; CORDELL, C.E. Methods for studying nursery and field response of trees to specific ectomycorrhiza. In: NORRIS, J.R.; READ, D.J.; VARMA, A.K. (eds.) **Methods in Microbiology**, London: 1991. V. 23.

McLAUGHLIN, M.J.; ALSTON, A.M.; MARTIN, J.K. Phosphorus cycling in wheat-pasture rotations. I. The source of phosphorus taken up by wheat. **Australian Journal of Soil Research**, v. 26, p. 326-331, 1988.

MIBASA. **Melhorador de Solo MB-4**. Disponível em <http://www.mibasa.com.br/Inter_br.htm> Acessado em 09/04/2005.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Programa Nacional de Florestas**. Disponível em <www.mma.gov.br/index.cfm?id_estrutura=5>. Acessado em 23/12/2003.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia do solo**. Lavras : Editora UFLA, 2002. 626 p.: il.

MULLETT, K.J. Studies of eucalypt mycorrhizas. A method of mycorrhiza induction in *Eucalyptus gummiifera* (Gaertn. & Hochr.) by *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch. **Australian Journal of Botany**, Victoria, v. 24, p. 193-200, 1976.

NAHUZ, M. **Mercado internacional sinaliza evolução**. Disponível em <www.remade.com.br/revista/materia.php?edicao=80> Acessado em 15/09/2004.

NARLOCH, C. **Interação microrganismos solubilizadores de fosfato – fungos ectomicorrízicos e o crescimento de *Pinus taeda* L.** 2002. 153 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

NATURAL RURAL. **Rocksil, Reforçador natural para vegetais.** Disponível em <http://www.naturalrural.com.br/produtos/produtos_especificos.asp> Acessado em 21/09/2005.

NIEMI, K.; et al. Ectomycorrhizal fungi and exogenous auxins influence root and mycorrhiza formation of Scots pine hypocotyl cuttings *in vitro*. **Tree Physiology**, Victoria, v. 22, p. 1231-1239, 2002.

OLIVEIRA, V.L.; GIACHINI, A.J. Ecologia e aplicação de ectomicorrizas. In: SIQUEIRA, J.O. et al. (eds). **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas.** Viçosa, SBCS, Lavras: UFLA/DCS, 1999. p. 775-796.

OLSSON, P.A.; WALLANDER, H. Interactions between ectomycorrhizal fungi and the bacterial community in soils amended with various primary minerals. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 27, p. 195-205, 1998.

PARIS, F.; BOTTON, B.; LAPEYRIE, F. In vitro weathering of phlogopite by ectomycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 179, p. 141-150, 1996.

PETERSON, R.L.; MASSICOTE, H.B.; MELVILLE, L.H. **Mycorrhizas: Anatomy and cell biology.** Ottawa, Ontario: National research council Canada, 2004. 171 p.: il.

PIGOTT, C.D. Survival of mycorrhiza formed by *Cenococcum geophilum* Fr in dry soils. **New Phytologist**, New York, v. 92, p. 513-517, 1992.

POPP, J.H. **Geologia geral.** 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Nacional, 1987. 299 p.

POTASH & PHOSPHATE INSTITUTE/PPIC-POTAFOS. **Brasil: Indicadores Gerais.** Disponível em <<http://www.ppi-far.org/ppiweb/brazil.nsf/>>. Acessado em 14/06/2005.

PROCHNOW, L.I. et al. Greenhouse evaluation of phosphorus sources produced from a low-reactive brazilian phosphate rock. **Agron. Journal**, v. 96, p. 761-768, 2004.

RAIJ, B.van. **Fertilidade do solo e adubação**. São Paulo/Piracicaba: Editora Ceres/POTAFOS, 1991. 343 p.

REDDELL, P.; PRIN, Y.; THEODOROU, C. Growth responses in *Acacia mangium* to inoculation with ectomycorrhizal fungi. In: **The international symposium on management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry**. Perth, Austrália. p.116, 1992.

REVISTA DA MADEIRA **Exportações chegam a US\$ 5,6 bilhões em 2003**. Disponível em <www.remade.com.br/revista/materia.php?edicao=81> Acessado em 15/09/2004.

RYGIEWICZ, P.T., BLEDSOE, C.S. Mycorrhizal effects of potassium fluxes by northwest coniferous seedlings. **Plant Physiology**, Maryland, v. 76, p. 918-923, 1984.

SANT'ANA; G.L.; FREITAS, L.C. **Desenvolvimento sustentável do setor florestal brasileiro**. Disponível em <www.remade.com.br/revista/materia.php?edicao=80>. Acessado em 15/09/2004.

SCHEIBE, L.F. **Geologia e petrologia do maciço alcalino de Lages - SC, Brasil**. 1986. 224 f. Tese (Doutorado). Instituto de Geociências – Universidade de São Paulo, São Paulo.

SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**. New York, v. 105, n. 12, p.1413-1421, dez 2001.

SILVA FILHO, G.N. **Solubilização de fosfatos pela microbiota do solo**. 1998. 140 f. Tese (Doutorado em Ciência do Solo). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

_____; VIDOR, C. Atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos na presença de nitrogênio, ferro, cálcio e potássio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1495-1508, 2001.

SLANKIS, V. Hormonal relationships in mycorrhizal development. In: MARKS, G.C.; KOZLOWSKI, T.T., eds. **Ectomycorrhizae: their ecology and physiology**. New York, Academic Press, 1973. p. 231-298.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 1997. 605 p.

SOARES, T.S.; CARVALHO, R.M.M.A. **Multiprodutos em povoamentos de eucalipto**. Disponível em <www.remade.com.br/revista/materia.php?edicao=80> Acessado em 15/09/2004.

SÖDERSTRÖM, B. **The fungal in the mycorrhizal symbiosis**. In: **Ecophysiology of ectomycorrhizae of forest trees**. Symposia proceedings: 7. Stockholm, 1991. p. 5-26.

SOUZA, L.A.B. **Seleção de fungos ectomicorrízicos eficientes para promoção do crescimento de *Eucalyptus dunnii* MAIDEN**. 2003. 100 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SOUZA, L.A.B.; SILVA FILHO, G.N.; OLIVEIRA, V.L. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção de crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.4. p. 349-355, 2004.

STRZELCZYK, E.; POKOJSKA, A.; KAMPERT, M. The effect of pH on production of plant growth regulators by mycorrhizal fungi. **Symbiosis**, Balaban, v. 14, p. 201-215, 1992.

_____ et al. Production of indole compounds by the ectomycorrhizal fungus *Cantharellus cibarius* Fr. **Pedobiologia**, Jena, v. 41, p. 402-411, 1997.

SYLVESTER-BRADLEY, R. et al. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfatos na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazônica**. Manaus, v. 12, n. 1, p. 15-22, 1982.

TAM, P.C.F.; GRIFFITHS, D.A. Mycorrhizal associations in Hong Kong Fagaceae IV. The immobilization of organic and poorly soluble phosphates by the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. **Mycorrhizal**, New York, v.2, p. 133-139, 1993.

TEDESCO, M.J.; et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre: Ed. da Universidade Federal de Rio Grande do Sul, 1995. 174 p.

TRAPPE, J.M. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 15, p. 203-222, 1977.

_____ Mycorrhizae and productivity of arid and semiarid rangelands. In: **Advances in food producing systems for arid and semi arid lands**. Acad. Press, Inc. New York. p. 581-599, 1981.

TSAI, S.M.; BARAIBAR, A.V.L.; ROMANI, V.L.M. Efeito de fatores do solo. In: CARDODO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do Solo**. Campinas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992, p.59-72.

UNGARETTI. G. O versátil Eucalipto. **Nova Ciência**, v. 26, p. 54-56, 1995.

VAN BREEMEN, N.; et al. Mycorrhizal weathering: A true case of mineral nutrition ? **Biogeochemistry**, v. 49, p. 53-67, 2000.

WALLANDER, H. Uptake of P from apatite by *Pinus sylvestris* seedlings colonised by different ectomycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 218, n. 1-2, p. 249-256, 2000a.

_____ Use of strontium isotopes and foliar K content to estimate weathering of biotite induced by pine seedlings colonised by ectomycorrhizal fungi from two different soils. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 222, p. 215-229, 2000b.

_____; WICKMAN, T. Biotite and microcline as potassium sources in ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. **Mycorrhiza**, New York, v. 9, p. 25-32, 1999.

_____; WICKMAN, T.; JACKS, G. Apatite as a P source in mycorrhizal and non – mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 196, p. 123-131, 1997.

WANG, J.G.; et al. Release of potassium from K-bearing minerals: Effect of plant roots under P deficiency. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 56, p. 45-52, 2000.

WATTEAU, F.; BERTELIN, J. Microbial dissolution of iron and aluminium from soil minerals: Efficiency and specificity of hydroxamate siderophores compared to aliphatic acids. **European Journal of Soil Biology**, v. 30, p. 1-9, 1994.

YUAN, L.; et al. Biological mobilization of potassium from clay minerals by ectomycorrhizal fungi and eucalypt seedling roots. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 262, p. 351-361, 2004.

ANEXOS

Anexo A. Meio Glicose extrato de levedura (GEL) (Sylvester-Bradley et al., (1982) modificado por SILVA FILHO (1998))

Reagentes	Quantidades
Glicose	10,0 g
Extrato de levedura	3,0 g
Solução de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2 mL
Solução de $CaCl_2$ a 1%	2 mL
Solução de $NaCl$ a 10%	1 mL
Solução de micronutrientes ⁽¹⁾	2 mL
Solução de Fe-EDTA ⁽²⁾	4 mL
KNO_3 ⁽³⁾	0,1 g
Ágar	15,0 g
Água destilada (q.s.p.)	1000 mL

(pH=7,0)

(1) 0,2 g de $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$, 0,235 g de $MnSO_4 \cdot 2H_2O$, 0,28 g de H_3BO_3 , 0,008 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,024 g de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ e 200 mL de água.

(2) Dissolução de 6,07 g de Na-EDTA e 6,17 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ em 900 mL de água aquecida. Em seguida ajustar o volume para 1000 mL q.s.p.

(3) KNO_3 substituído por NH_4NO_3 .

Anexo B. Preparo de 1 L da solução P-B (molibdato de amônio)

- a) Dissolver 3,8g de molibdato de amônio $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ em 150 mL de água destilada previamente aquecida a 60°C , em copo de Becker de 200 mL;
- b) Deixar esfriar, transferir para um balão volumétrico de 200 mL e completar o volume com água destilada;
- c) Transferir para um frasco com capacidade para 1 L;
- d) Em outro balão, colocar 80 mL de água destilada;
- e) Adicionar 70,7 mL de HCl concentrado ($d=1,191$; 37,7% e 12,31N) e agitar;
- f) Completar o volume com água destilada e agitar;
- g) Transferir para o frasco de 1 L, onde já se encontra a solução de molibdato de amônio, e agitar;
- h) Adicionar 600 mL de água destilada, utilizando balão volumétrico de 200 mL, e agitar bem para a perfeita homogeneização.

Anexo C. Preparo da solução P-C (ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico)

- a) Preparar um estoque de pó redutor, misturando e triturando em almofariz os seguintes reagentes:
- 2,50 g de ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfônico,
 - 5,0 g de sulfito de sódio (Na_2SO_3),
 - 146,0 g de metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$);
- b) Guardar o pó redutor em vidro fosco, envolto em folha de papel alumínio (no máximo por 40 dias);
- c) Dissolver 32,0 g do pó redutor em 200 mL de água destilada morna (50-60°C), em copo de Becker de 1000 mL;
- d) Transferir para um vidro fosco escuro e deixar em repouso até cristalizar (3 a 6 dias);
- e) Filtrar o cristalizado e guardar a solução (usar no máximo em três semanas).

**Anexo D. Composição do meio de cultura Melin-Norkrans Modificado (MNM)
MARX (1969)**

Ingredientes	Quantidade
CaCl ₂	50 mg
NaCl	25 mg
KH ₂ PO ₄	50 mg
(NH ₄) ₂ HPO ₄	25 mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	15 mg
FeCl ₃	1,2 mg
Tiamina-HCl	100 µg
Extrato de malte	3,0 g
Glicose	10 g
Ágar-ágar	15 g
Água destilada (q.s.p.)	1000 mL

(pH=5,8)

Anexo E. Análise do substrato de plantio turfa-vermiculita com as quantidades de potássio e fósforo (g por Kg⁻¹).

GOVERNO DO ESTADO DE SANTA CATARINA
 SECRETARIA DO DESENVOLVIMENTO RURAL E DA AGRICULTURA
 EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A.
 Administração Regional de Caçador
Estação Experimental de Caçador
 Fone: (049)663-0211 - Fax (049)663-3211 - C.P. 991 - CEP 89500-000 - Caçador, SC, Brasil

Nome Remet: Sergio Omar
 Endereço: E.E.Cd
 Tipo de Amostra: Resíduo Orgânico
 Unidade: Caçador - SC

DATA DE ENTRADA: 12/03/2003

CODIGOS		N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B	C	Umid
Lab.	Remet.	g kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	%	%								
964	Al	8.3	0.9	0.6	2.7	49.4	4716	198	47	31	13	31.1	22.7
												M.O.	
												%	53.6

Eng.^o Agr.^o Ph. D. CLORI BASSO
 CREA - SC - N.^o 13.824

OBS: (mgkg⁻¹ = ppm)
 Caçador, 21/03/2003