

## Inoculação de Fungos Micorrízicos Arbusculares em Leguminosas Arbóreas em Substrato Contendo Rejeito da Mineração de Carvão<sup>(1)</sup>

**Shantau Camargo Gomes Stoffel<sup>(2)</sup>; Mayara Gomes Zanatta<sup>(3)</sup>; Edenilson Meyer<sup>(3)</sup>; Ginaini Grazielli Doin de Moura<sup>(3)</sup>; Admir José Giachini<sup>(4)</sup>; Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares<sup>(4)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do CNPq proc. 561819/2010-6

<sup>(2)</sup> Estudante de graduação em Agronomia bolsista PIBIC/CNPq, Depto. Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP), Centro de Ciências Biológicas (CCB), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus Universitário da Trindade, Florianópolis, SC, e-mail: shantau1@gmail.com; <sup>(3)</sup> Estudante de Agronomia da UFSC; <sup>(4)</sup> Professor do MIP/CCB/UFSC, Florianópolis, SC.

**RESUMO:** A introdução de leguminosas arbóreas é uma alternativa de revegetação de áreas impactadas pela mineração de carvão e os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) podem facilitar o estabelecimento e sobrevivência destas espécies. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da inoculação de FMA no crescimento, colonização micorrízica e absorção de P em leguminosas arbóreas de rápido crescimento em substrato contendo rejeito de carvão. Foram avaliadas as leguminosas angico-vermelho, bracatinga e maricá e os isolados de FMA *Acaulospora colombiana*, *A. morrowiae*, *Dentisculata heterogama*, *Rhizophagus clarus* e *R. irregulares*. Verificou-se que a colonização micorrízica foi elevada na bracatinga e maricá, sendo estas responsivas a todos os FMA testados, enquanto o angico-vermelho apresentou menor colonização e crescimento. Mudanças micorrizadas apresentaram maior absorção de P e isso pode favorecer o processo de recuperação de áreas impactadas pela deposição de rejeitos de mineração de carvão.

**Termos de indexação:** Absorção de fósforo, colonização micorrízica, recuperação ambiental

### INTRODUÇÃO

A extração de carvão mineral representa importante atividade do setor termoeletrico brasileiro e na indústria cimenteira, petroquímica e de papel e celulose. Entretanto, esta atividade afeta física, química e biologicamente os ecossistemas associados às áreas mineradas, pondo em risco o solo, a biota e os recursos hídricos, havendo a necessidade de forte intervenção antrópica para a recuperação destas áreas. A revegetação é a etapa do processo de recuperação de áreas degradadas em que são adotadas medidas para a implantação de uma cobertura vegetal, visando não somente a recuperação paisagística, mas também o controle dos processos erosivos e a recuperação das propriedades do solo (Siqueira et al., 2007). Dentre as diversas espécies florestais que podem ser

utilizadas em programas de revegetação de solos degradados pela mineração de carvão, destacam-se as leguminosas arbóreas de rápido crescimento que apresentam capacidade fixadora do nitrogênio atmosférico (Faria et al., 1998). Além de enriquecer o solo com este nutriente, estas espécies podem ser utilizadas próximas aos escoadouros naturais, nas áreas de cava preenchidas com estéril e também são adequadas para a formação de barreiras naturais de modo a minimizar os processos erosivos e o impacto visual das cavas em relação às estradas que circundam as áreas de mineração. Algumas destas espécies são capazes de formar simbiose eficiente com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pertencentes ao Filo Glomeromycota, os quais são conhecidamente importantes na absorção de água e nutrientes (notadamente P) para a planta simbiótica (Schubler et al., 2001). Entretanto, trabalhos de seleção de FMA para espécies arbóreas visando o emprego em áreas degradadas pela mineração de carvão no Brasil são escassos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da inoculação de FMA no crescimento, colonização micorrízica e absorção de P em leguminosas arbóreas de rápido crescimento em substrato contendo rejeito de mineração de carvão visando emprego destas espécies em programas de revegetação na região do extremo-Sul do Estado de Santa Catarina.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UFSC, utilizando-se um substrato contendo uma mistura de solo contendo rejeito da mineração de carvão, vermiculita e areia na proporção de 7:3:1. O solo degradado utilizado na mistura apresenta as seguintes características químicas:  $pH_{H_2O} = 3,8$ ; mat. orgânica = 86 g kg<sup>-1</sup>; Al<sup>3+</sup>

= 6,9  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ ;  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  trocáveis = 1,9 e 3,1  $\text{cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ , respectivamente;  $\text{P}_{\text{Mehlich-1}} = 0,84 \text{ mg dm}^{-3}$ ; teores de elementos-traço, em  $\text{mg kg}^{-1}$  de: 8,60 (As), 17,3 (Cd), 125 (Pb) e 422 (Zn), sendo muitos destes valores superiores aos valores de prevenção da lista de referência da CETESB (2005). Estas características indicam que este solo apresenta elevada acidez, baixa fertilidade e elevado grau de contaminação. O substrato obtido foi autoclavado duas vezes a 121 °C por duas horas para eliminar propágulos de FMA e colocado em tubetes de 280  $\text{cm}^3$ . Sementes de *Mimosa scabrella* (bracatinga), *M. bimucronata* (maricá) e *Parapiptadenia rigida* (angico-vermelho) foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 5% por dois minutos e imersas à quebra de dormência por meio de imersão em água quente (80 °C) por um período de 24 h. Em seguida as sementes foram colocadas nos tubetes e procedeu-se a inoculação por meio da adição de 10  $\text{cm}^3$  de solo-inóculo contendo esporos e outros propágulos de FMA. Os seguintes isolados fúngicos foram testados: *Acaulospora colombiana*, *A. morrowiae*, *Dentisculata heterogama*, *Rhizophagus clarus* e *R. irregulares*, todos obtidos das áreas degradadas de mineração e também pertencentes à coleção de FMA do Laboratório de Microbiologia do Solo da UFSC. Além destes tratamentos, foi incluído também um tratamento controle sem inoculação, no qual foi aplicado um filtrado do solo-inóculo ausente de propágulos de FMA, visando equilibrar a microbiota destes tratamentos. Desta forma, para cada espécie de leguminosa arbórea foi montado um experimento com seis tratamentos (cinco tratamentos inoculados com FMA e um controle não inoculado) em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

Sete dias após a germinação das sementes, iniciou-se a aplicação de 20 mL de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) diluída quatro vezes a cada cinco dias. Após a sexta aplicação, esta solução foi substituída por uma solução de mesma composição ausente de P para evitar inibição da colonização micorrízica. O experimento foi conduzido por um período de 137 dias quando avaliou-se a altura das plantas e em seguida procedeu-se a colheita das mesmas separando-as em raízes e parte aérea. Amostras de raízes (cerca de 2,0 g) foram coletadas e submetidas a clarificação e coloração com azul de tripan (Koske & Gemma, 1989) e determinada a colonização micorrízica pelo método das intersecções em placas reticuladas (Giovannetti & Mosse, 1980). A parte aérea das plantas foi coletada e seca em estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 60 °C para determinação da produção de matéria seca

e quantificação do teor de P nas plantas seguindo metodologia descrita em Tedesco et. al. (1995). A quantidade de P acumulada na parte aérea foi calculada multiplicando-se o teor deste elemento por sua respectiva produção de massa seca. Os dados foram submetidos a análise de variância e a comparação de médias realizada pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando-se o software SISVAR v.5.3 (Ferreira, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a colonização micorrízica foi diferenciada para as leguminosas arbóreas testadas, apresentando menores valores para o angico-vermelho (9 a 26%), enquanto que para a bracatinga e maricá esta atingiu valores de até 64 e 69%, respectivamente, principalmente para *R. irregulares* e *R. clarus* (Figura 1). Assim, estes isolados são promissores para a inoculação destas espécies na revegetação de áreas degradadas pela mineração de carvão. A baixa colonização do angico-vermelho pode ser resultado da sua maior sensibilidade à presença de rejeitos no substrato, comprometendo o estabelecimento da simbiose micorrízica (Nogueira e Soares, 2010), principalmente quando esta espécie encontra-se associada a *A. colombiana*. De fato, o angico-vermelho apresentou menor altura e produção de matéria seca da parte aérea em relação às demais leguminosas arbóreas e também não foi beneficiado quando inoculado com *A. colombiana*. Em contrapartida, todos os isolados de FMA favoreceram o crescimento da bracatinga e maricá, incluindo os FMA que proporcionaram maior colonização micorrízica (*R. clarus* e *R. irregulares*), assim como aqueles com menor colonização (*A. colombiana*, *A. morrowiae* e *D. heterogama*). Este comportamento diferenciado pode ter relação com os vários mecanismos envolvidos na fitoproteção destes fungos às plantas simbióticas, incluindo a retenção de contaminantes no micélio fúngico e também melhorias na absorção de água e nutrientes (Siqueira et al., 2007; Soares e Siqueira, 2008).

Na Figura 2 são apresentados os efeitos da inoculação de FMA no teor e acúmulo de P na parte aérea das leguminosas arbóreas. No angico-vermelho verificou-se teores elevados de P no tratamento com *A. colombiana* e isso se deve ao efeito de concentração, uma vez que este tratamento apresentou baixa produção de matéria seca. Enquanto isso, nos tratamentos inoculados com *A. morrowiae*, *D. heterogama* e *R. clarus*, o teor de P foi inferior ao não inoculado em função do efeito de diluição decorrente do favorecimento



destes isolados no crescimento do angico-vermelho. A bracatinga e o maricá obtiveram os maiores teores de P quando inoculados com *A. colombiana* e *A. morrowiae*, chegando a um incremento de 393% em relação ao tratamento não inoculado. Verificou-se que a quantidade acumulada de P na parte aérea foi 37 vezes superior ao tratamento não inoculado e isso se deve ao favorecimento dos FMA no crescimento e teores de P na parte aérea. Este benefício dos FMA na absorção de P está relacionado com o aumento de volume de solo explorado pela extensa rede micelial dos FMA (Rillig et. al., 2002). Os resultados evidenciam a importância da inoculação de FMA no crescimento de leguminosas arbóreas com capacidade fixadora de N e também na absorção de elementos pouco móveis no solo como é o caso do P. Com isso, os FMA podem desempenhar papel importante no enriquecimento da camada superficial do solo, disponibilizando estes nutrientes para outras espécies vegetais, acelerando o processo de recuperação de áreas impactadas pela deposição de rejeitos de mineração.

### CONCLUSÕES

A inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) propicia elevada colonização micorrízica para a bracatinga e maricá, beneficiando o crescimento destas espécies em substrato contendo rejeito de mineração de carvão, sendo este comportamento menos evidente para o angico-vermelho.

Mudas das leguminosas arbóreas micorrizadas apresentam maior absorção de P e isso pode favorecer o processo de recuperação de áreas impactadas pela deposição de rejeitos de mineração de carvão.

### AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo apoio ao projeto de pesquisa proc. 561819/2010-6

### REFERÊNCIAS

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

FERREIRA, D.F. Sistemas de análise estatística para dados balanceados. Lavras: UFLA: DEX: SISVAR, 1998. 141p.

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

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *California Agriculture Experimental Station Circular*, 1950. 347p.

KOSKE R.E.; GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhiza. *Mycol. Res.*, v. 92, p. 486-505, 1989.

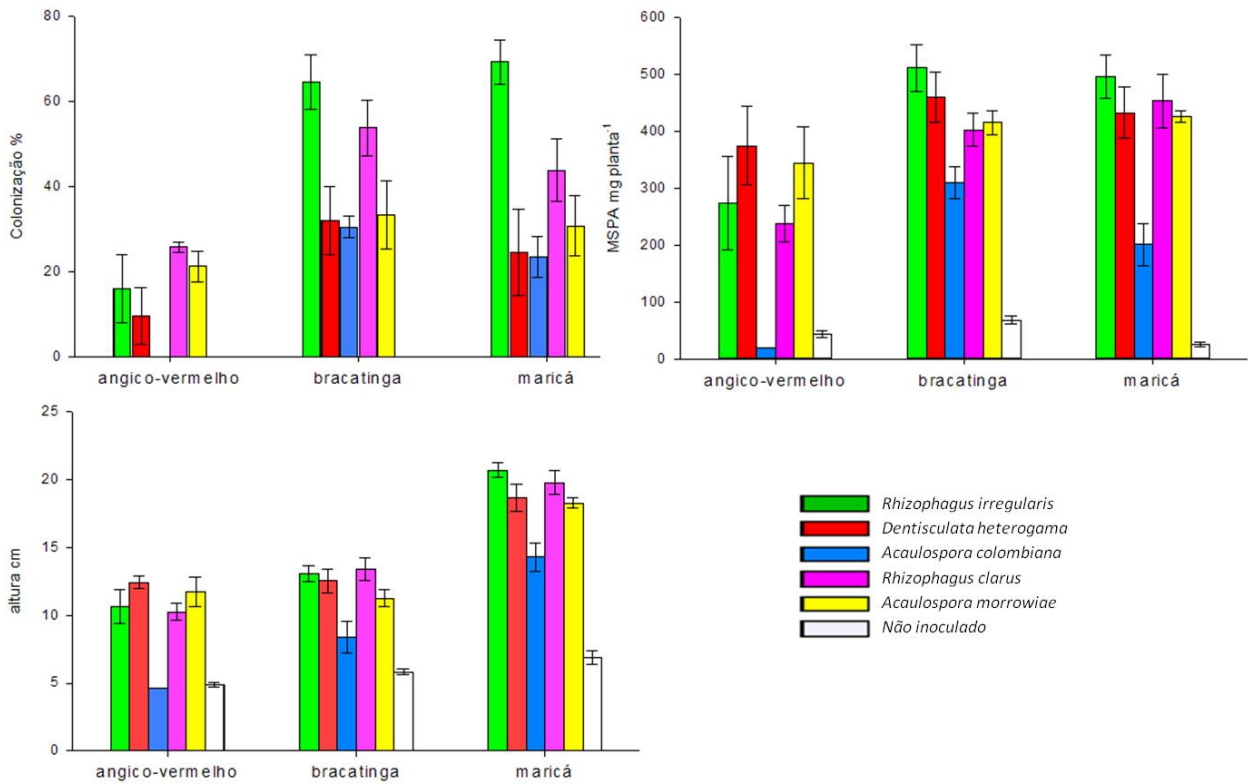
NOGUEIRA, M. A. & SOARES, C. R. F. S. Micorrizas Arbusculares e Elementos-Traço. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. ed. *Micorrizas: 30 anos de Pesquisas no Brasil*. Lavras: UFLA, 2010. p.475-501.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.*, 105(12):1413-1421, 2001.

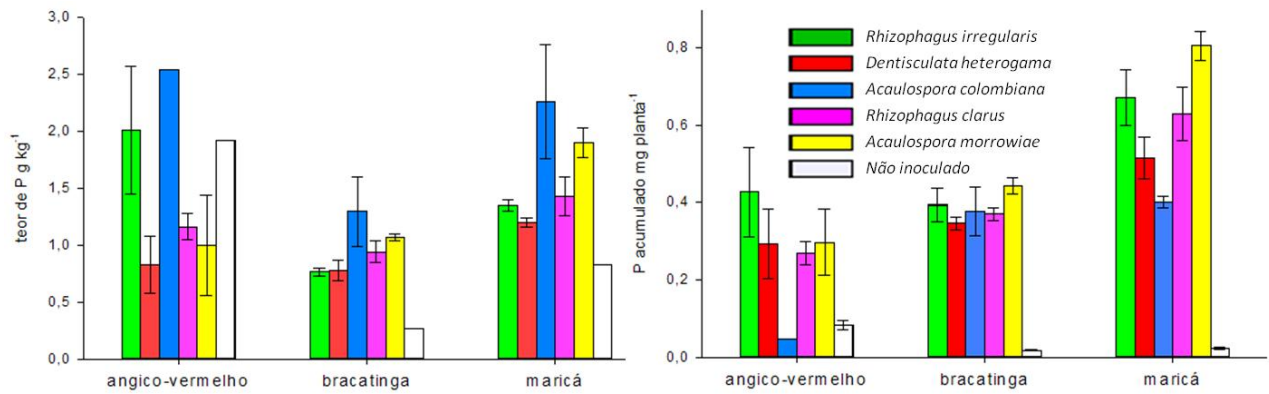
SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S.; SANTOS, J.G.D.; SCHNEIDER, J.; CARNEIRO, M.A.C. Micorrizas e a degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. *Tópicos em Ciência do Solo*, 5:219-306, 2007.

SOARES, C.R.F.S. & SIQUEIRA, J.O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. *Biology and Fertility of Soils*, 44: 833-841, 2008.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. *Análise de solos, plantas e outros materiais*. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5).



**Figura 1.** Colonização micorrízica e crescimento de leguminosas arbóreas após inoculação de FMA em substrato contendo rejeito de mineração de carvão.



**Figura 2.** Teor e acúmulo de P de leguminosas arbóreas após inoculação de FMA em substrato contendo rejeito de mineração de carvão.