

CRESCIMENTO DE BRAQUIÁRIAS CO-INOCULADAS COM *Glomus clarum* E RIZOBATÉRIA EM ESTÉRIL DE MINERAÇÃO DE CARVÃO A CÉU ABERTO¹

Gessiane Ceola², Osmar Klauberg Filho³, David José Miquelutti⁴, Mari Lúcia Campos⁵

RESUMO: Para avaliar o potencial de uso de FMAs e da sua co-inoculação com bactérias rizosféricas promotoras de crescimento como alternativas biotecnológicas na revegetação de estéril com braquiárias, foi conduzido um experimento em casa de vegetação com os seguintes fatores: três genótipos de braquiária (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-aruana* e *Brachiaria maximum-marandu*); três tratamentos de inoculação sem inoculação - NI, inoculado com *Glomus clarum* -GC e co-inoculado com *Glomus clarum* e rizobactéria promotora de crescimento - GC+RB); e 3 tratamentos de calagem: 25% da recomendação: 0,142 kg de calcário por vaso (14,2 ton.ha⁻¹), 50% da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso (28,5 ton.ha⁻¹) e 75% da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso (42,5 ton.ha⁻¹) com base no potencial de acidez do solo). Os tratamentos do experimento foram dispostos em delineamento fatorial casualizado com 5 repetições. A co-inoculação de *G. clarum*+rizobactéria contribuiu para o incremento de biomassa seca dos genótipos de braquiária. A inoculação com *G. clarum* promoveu maior fertilidade das plantas. A dose de 42,7 ton.ha⁻¹ de calcário promoveu maior biomassa vegetal e presença microbiana na raiz das plantas. Portanto o uso de inoculantes pode ser indicado para a revegetação com braquiária em áreas com estéreis de mineração, em Lauro Müller-SC.

PALAVRAS-CHAVE: fungos micorrízicos arbusculares, mineração de carvão, gramíneas.

GROWTH OF CO-INOCULATED BRACHIARIA WITH *GLOMUS CLARUM* AND STERILE RHIZOBACTERIA IN SURFACE COAL MINING

SUMMARY: To evaluate the potential use of AMF and growth promoters rhizobacteria as biotechnology alternatives in the revegetation of sterile soil with Brachiaria, an experiment was conducted in a greenhouse with the following factors: three genotypes (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-aruana* and *Brachiaria maximum-marandu*), three inoculation treatments without inoculation-NI, inoculated with *Glomus clarum*-GC and co-inoculated with *Glomus clarum* and growth promoting rhizobacteria-GC+RB) and three treatments of liming: 25% of the

¹ Parte da dissertação de mestrado da primeira autora

² Doutoranda da Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UDESC

³ Professor da Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UDESC

⁴ Professor da Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UDESC

⁵ Professor da Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UDESC

recommendation: 0.142 kg of lime per pot (14.2 ton/ha^{-1}), 50% of the recommendation: 0.285 kg of lime per pot (28.5 ton/ha^{-1}) and 75% of the recommendation: 0.425 kg of lime per pot (42.5 ton/ha^{-1}) based on the potential of soil acidity). The experimental is a factorial experiment and their factors are arranged following the complete randomized design with five replications. Co-inoculation of *G. clarum*+Rhizobacteria contributed to the increase of dry mass of the genotypes of Brachiaria. Inoculation with *G. clarum* promoted greater fertility of plants. The dose of 42.7 ton/ha^{-1} of lime promoted greater microbial biomass and activity in the roots of plants. Therefore the use of inoculants may be suitable for revegetation with Brachiaria in areas with mining sterile in Lauro Müller City-Santa Catarina State.

KEY WORDS: arbuscular mycorrhizal fungi, coal mining, grasses

INTRODUÇÃO

No Sul de Santa Catarina destaca-se com o problema ambiental a grande área de solos degradados resultante da mineração de carvão. O carvão mineral se constitui em dois terços dos recursos energéticos não-renováveis nacionais, dos quais Santa Catarina detém 4,3 bilhões de toneladas de reserva o que corresponde à 13% do total do país. A exploração de carvão é feita em minas subterrâneas e a céu aberto. Ambas acarretam problemas ambientais, pois modificam a estrutura do meio natural, pela disposição inadequada dos rejeitos da mineração, causando contaminação de águas superficiais e subterrâneas, promovendo alterações na atmosfera ao redor das minas pela geração de gases e poeiras e perda do solo fértil (Sanchez e Formoso, 1990).

Assim, devido aos diferentes processos de lavra e de recomposição utilizados pelas mineradoras, aliados às dificuldades de fiscalização, observa-se na prática, que a maioria das áreas recompostas encontra-se em elevado estágio de degradação. Um dos maiores problemas constatados na maioria delas é o da contaminação das camadas superficiais com resíduo piritoso do carvão, que pode atingir graus muito elevados (Campos et al, 2010). Os altos níveis de acidificação do solo resultantes da oxidação da pirita provocam dissolução de minerais, elevando a concentração de Al, Mn e de outros metais pesados a níveis tóxicos e promovendo forte lixiviação das bases (Barnishel et al., 1992), o que normalmente afeta drasticamente o programa de revegetação das áreas exploradas.

Assim, a biota do solo e seus processos oferecem várias alternativas para o desenvolvimento de biotecnologias capazes de aumentar a sustentabilidade dos sistemas degradados, reduzindo a aplicação de fertilizantes químicos (Döbereiner, 1995). Dentre essas alternativas está o uso de microrganismos mutualistas, como exemplos podem ser citadas as que formam associações a

inúmeros gêneros de plantas colonizando-as endofíticamente, sendo mais comumente isoladas de gramíneas (Reis e Teixeira, 2004) e fungos micorrízicos arbusculares que são simbiontes facultativos obrigatórios (Siqueira et al., 2000).

As rizobactérias são capazes de colonizar o interior da planta sem invadir os tecidos vasculares ou o interior das células, contribuindo para o desenvolvimento do vegetal através da fixação biológica de nitrogênio atmosférico e de mecanismos de promoção de crescimento (Baldani 2007). Por estes e outros efeitos, a introdução prévia de gramíneas em áreas desprovidas de vegetação é muito vantajosa.

Os fungos micorrízicos arbusculares têm sido naturalmente encontrados nesses solos alterados (Maschio et al., 1992) e a recuperação com fungos micorrízicos arbusculares em área impactada pela mineração está mais relacionada com a vegetação introduzida do que com o tempo de reabilitação das áreas (Melloni et al., 2003).

Além disso, o manejo adequado do solo e das culturas pode reduzir o tempo necessário para recuperação de áreas degradadas e a calagem, a fertilização e o plantio de espécies forrageiras são práticas necessárias em áreas de mineração de carvão (Maçaneiro, 2001).

Embora gramíneas sejam freqüentemente plantadas ou semeadas em áreas em processo de reabilitação (Lunardi et al., 2008), os estudos sobre a microbiota do solo em áreas de mineração são escassos. Assim este trabalho tem o objetivo de avaliar o efeito da inoculação de FMAs e sua co-inoculação com RBPC no crescimento de espécies/genótipos de Brachiaria em estéril de mineração de carvão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Solos, Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), em vasos de 3 kg de estéril de mineração de carvão. O experimento seguiu arranjo fatorial com os seguintes tratamentos: três espécies de braquiária (*Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-aruana* e *Brachiaria maximum-marandu*), três tratamentos de inoculação sem inoculação - NI, inoculado com *Glomus clarum* - GC e co-inoculado com *Glomus clarum* e rizobactéria promotora de crescimento - GC+RB). O experimento foi montado em delineamento fatorial 3x3x3 casualizado com cinco repetições, perfazendo um total de 135 unidades experimentais.

A seleção das espécies de braquiária foi devido ao uso que as empresas de mineração têm dado a estas gramíneas no processo de revegetação para posterior uso como pastagem.

O substrato utilizado foi um estéril de mineração de carvão, coletado no terreno abandonada, contaminado com resíduo piritoso, no município de Lauro Müller-SC. Esta área se caracteriza como uma antiga área minerada a céu aberto e não recuperada cuja cava foi preenchida com estéril de mineração de carvão a céu aberto, com algumas gramíneas espontâneas do gênero *Andropogon* e mudas de eucalipto introduzidas. Todo o volume de estéril coletado na area foi peneirado em peneira de 4 mm para padronizar a granulometria. O estéril coletado para uso no experimento apresentou características ácidas e baixa fertilidade devido a oxidação da pirita. Foram identificadas duas espécies de FMA na amostra de estéril coletada: *Entrophospora colombiana Spain e Schenck* e *Paraglomus occultum (Walker) Morton e. Redecker*, conforme descrito no capítulo 1. Também foi avaliada a ocorrência de rizobactérias promotoras de crescimento, determinada pelo método do NMP em meios de cultura para Azospirillum (LGI e NFb) conforme Döbereiner et al., 1995. Foram observadas $4,9 \times 10^3$ células por mL de solo em LGI e $3,0 \times 10^3$ células por mL de solo em NFb, média de 20 amostras de estéril coletadas em uma grade de amostragem 10x10 metros.

Para a inoculação de *Glomus clarum* nos tratamentos foi utilizado solo-inóculo fornecido pela Embrapa Agrobiologia, contendo, em média, 90 esporos por grama de solo. No tratamento com inoculação de rizobactéria, foi utilizado inoculante do isolado UDESC AI27, proveniente da coleção de rizobactérias promotoras de crescimento do Laboratório de Microbiologia e Fauna do Solo da UDESC, contendo uma média de $5,7 \times 10^{-8}$ células por mL de inóculo. As sementes de braquiária foram colocada em 500 mL de inóculo de rizobactéria e mantida por 120 minutos.

Para a determinação do potencial de acidificação (PA) foi utilizado o método do peróxido de hidrogênio modificado (Oshay et al., 1990), com algumas adaptações (Pinto, 1997). Para a remoção dos carbonatos, foram pesadas 5,0 g de amostra em tubos de centrifuga de 100 mL, adicionados 25 mL de HCl 0,5 mol L⁻¹ e aquecidos em banho maria por 45 minutos. Para remover a acidez residual, foi utilizada a lavagem com 25 mL de CaCl₂ 1 mol L⁻¹ seguida de centrifugação, repetida duas vezes.

O potencial de neutralização (PN) foi determinado pelo consumo do ácido adicionado a amostra por titulação com NaOH 0,5 mol L⁻¹. Os resíduos que ficaram nos tubos de centrifugação foram secados em estufa a 40°C. Pesou-se 1,0 g desse material em copos erlenmeyer de 300 mL cobertos com vidros de relógio e colocados para fervura em banho de areia.

Foram adicionados aos poucos 100 mL de peróxido livre de estabilizantes, e fervidas as amostras por 60 minutos. Após transcorridos os 60 minutos de fervura, nas amostras onde o peróxido estava completamente decomposto, foram adicionadas mais 50 mL deste produto e fervidas por outros 60 minutos, até assegurar o excesso do peróxido.

Posteriormente as amostras foram esfriadas a temperatura ambiente, adicionando-se 1ml CaCl₂ 1 mol L⁻¹ para remover a acidez trocável, completando aproximadamente 150 ml e tituladas até atingir o pH 5,5 com NaOH 0,005 mol L⁻¹. A recomendação foi de 57 toneladas de calcário por hectare.

Desta forma para 2 kg de substrato a recomendação foi de 0,570 kg (57 Ton./ha) de cacáio por vaso. Assim foram estabelecidas três recomendações de calagem para o experimento: 25% da recomendação: 0,142 kg de calcário por vaso (14,2 ton.ha⁻¹ – toneladas por hectare), 50% da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso (28,5 ton.ha⁻¹ – toneladas por hectare) e 75% da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso (42,5 ton.ha⁻¹ – toneladas por hectare). Após a calagem, que foi feita por vaso, o substrato ficou 1 mês em repouso, antes de receber as sementes e inoculantes.

As sementes foram colocadas para germinar nos vasos e quinze dias após germinação, as plântulas foram desbastadas, deixando-se 12 mudas por vaso. Na colheita do experimento, 90 dias após o desbaste, a parte aérea das plantas foi cortadas rente ao solo, as raízes foram retiradas do substrato e lavadas em peneira de 2 mm, por conseguinte estas foram secas em estufa à 60° C por 3 a 4 dias para determinação de matéria seca da parte aérea e raízes. Amostras de 1 grama da parte radicular foram coletadas após a lavação, para determinação da colonização micorrízica do sistema radicular. Estas raízes foram coloridas para visualização das estruturas fúngicas pelo método proposto por Koske e Gemma (1989) e a porcentagem de colonização foi estimada pelo método das linhas cruzadas segundo Giovannetti e Mosse (1980).

Foi realizada também a quantificação do comprimento de micélio extra-radicular total no solo (CMET), por peneiramento úmido do solo e filtração em membranas de celulose quadriculadas, segundo metodologia proposta por Melloni (1996). A determinação da ocorrência de rizobactérias em meio LGI e NFb, indicado para isolamento de *Azospirillum*, foi realizada conforme técnica do número mais provável de propágulos - NMP (Döbereiner et al., 1995).

Os valores de P da parte aérea foram quantificados pelo método de digestão ácida descrito por Tedesco et al (1995).

Os resultados foram avaliados utilizando o teste de análise de variância ANOVA, seguido pelo teste de Bonferroni. O valor de p<0,05 foi considerado de significância mínima para todas as análises estudadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada interação entre os tratamentos de inoculação, doses de calcário aplicadas ao estéril e espécies/genótipos de braquiária testados. As braquiárais apresentaram maior produção de massa seca da parte aérea quando inoculadas, sendo a massa seca maior no tratamento de co-inoculação (17,4g) e maior quando inoculadas apenas com *G. clarum* (15,7g), isto em relação as plantas não inoculadas.

A massa seca da parte aérea das braquiárias variou com a dose de calcário diferentemente para as espécies de braquiária testadas (Tabela 1). Na dose 42,5 ton.ha⁻¹, *B. maximum-marandu* destacou-se das demais espécies apresentando a maior produção de fitomassa (21g), o que equivale a 67% de aumento em relação a NI. O aumento da dose de calcário influenciou apenas o genótipo de *B. maximum*: aruana que apresentou maior fitomassa na dose 28,5 ton.ha⁻¹ e marandu na dose máxima de calcário.

Tabela 1. Massa seca da parte aérea (g) de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-aruana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Dose de Calcário*	<i>B.brizantha</i>	<i>B. maximum-aruana</i>	<i>B. maximum-marandu</i>
14,2 ton.ha ⁻¹	13,7 aA**	11,7aB	13,9aB
28,5 ton.ha ⁻¹	16,9 aA	17,3 aA	15,1 aB
42,7 ton.ha ⁻¹	17,1, abA	15,5 bAB	21,1 aA

*14,2 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,142 kg de calcário por vaso, 28,5 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso e 42,7 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso;

**Letra maiúscula compara linhas, letra minúscula colunas dentro de cada quadro. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (n=15).

A massa seca da raiz teve efeito da inoculação para *B.brizantha* com GC+RB (13,29g) e para Marandu com GC (11,07g). As recomendações de calcário no geral não apresentaram efeito no incremento de biomassa da raiz (Tabela 2).

Tabela 2. Massa seca da raiz (g) de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-aruana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Tratamento	<i>B.brizantha</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	8,18 Aa	6,39 Aa	6,51 Ab
<i>G. clarum</i>	6,29 Ba	11,05 Aa	7,10 Bb
<i>G.clarum + RB</i>	10,22 Aa	9,70 Aa	13,29 Aa

Tratamento	<i>B. maximum-aruana</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.**	4,09 Ba	9,76 Aa	5,46 ABb
<i>G. clarum</i>	5,17 Ba	7,70 Aba	10,48 Aa
<i>G. clarum</i> + RB	7,95 Aa	11,86 Aa	9,30 Aab

Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	4,40 Ba	5,52 Aba	9,50 Aa
<i>G. clarum</i>	8,41 Aa	7,44 Aa	11,07 Aa
<i>G. clarum</i> + RB	5,43 Aa	7,58 Aa	8,45 Aa

*14,2 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,142 kg de calcário por vaso, 28,5 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso e 42,7 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso; N.I: tratamento sem inoculação; *G. clarum*: inóculo micorrízico de *Glomus clarum*, *G. clarum*+RB: inóculo micorrízico de *Glomus clarum* e rizobactérias. **Letra maiúscula compara linhas, letra minúscula colunas dentro de cada. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (n=15).

Apesar dos valores de colonização micorrízica total observada neste experimento estarem baixos, pode-se notar que o inóculo de *G. clarum* e de rizobactérias aumentou a presença do fungo na raiz, assim a presença de rizobactérias não afetou a colonização micorrízica.

Para a porcentagem de colonização micorrízica o efeito da inoculação foi significativo para *B. brizantha* e para arunana recomendações de 28,5 e 42,7 ton.ha⁻¹ com valores que variaram de 22,9 a 45,7%. No genótipo de marandu a inoculação não promoveu efeito significativo (Tabela 3).

Na massa seca os tratamentos de fungo e fungo e bactéria não apresentaram diferença significativa e comparando com Russo et al (2008), que testou a inoculação de *G. mosseae* e *G. macrocarpum* com *Azospirillum lipoferum* em diferentes genótipos de trigo e milho concluiu que as bactérias não interferiram na colonização, mas contribuiu com o aumento radicular, este resultado é confirmado neste estudo pois a colonização micorrízica não diferiu estatisticamente entre tratamentos com inoculantes, porém *G. clarum* +RB incrementaram a biomassa seca das gramíneas.

Tabela 3. Colonização micorrízica (%) de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-aruana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Tratamento	<i>B. brizantha</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	15,9 Bb	21,1 Bb	29,9 Ab
<i>G. clarum</i>	23,2 Ba	38,1 Aa	32,7 Ab
<i>G. clarum</i> + RB	22,9 Ba	38,1 Ba	45,7 Aa

Tratamento	<i>B. maximum-aruana</i>		

	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	19,63 Ba	23,48 Bb	33,57 Ab
<i>G. clarum</i>	19,36 Ba	39,35 Aa	43,91 Aa
<i>G. clarum</i> + RB	15,04 Ca	41,05 Aa	32,65 Bb
Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	19,18 Ca	25,62 Ba	36,89 Aa
<i>G. clarum</i>	15,63 Ba	42,02 Aa	38,77 Aa
<i>G. clarum</i> + RB	20,75 Ba	38,33 Aa	41,36 Aa

*14,2 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,142 kg de calcário por vaso, 28,5 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso e 42,7 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso; N.I: tratamento sem inoculação; *G. clarum*: inóculo micorrízico de *Glomus clarum*, *G. clarum*+RB: inóculo micorrízico de *Glomus clarum* e rizobatérias. **Letra maiúscula compara linhas, letra minúscula colunas dentro de cada. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (n=15).

O comprimento de micélio foi maior nos tratamentos com inoculantes para todos os genótipos de braquiárias, concordando com os dados obtidos de colonização micorrízica. Apesar da maior ocorrência de FMAs nos tratamentos de *G. clarum* e *G. clarum*+R, o incremento de biomassa seca da raiz, não teve no geral diferença significativa frente aos inoculantes. Assim pode-se concluir que apesar do incremento no comprimento de micélio com a inoculação, estes valores não foram suficientes para incrementar o peso seco da raiz (Tabela 4).

Os maiores comprimentos de micélio foram observados na maior recomendação de calagem (8,72 a 52,33 m/grama de solo), concordando com Mendonça (2002), nas áreas de mineração de carvão em SC, que obteve em seus resultados valores maiores nos tratamentos com calcário (15,2 m g/solo) e matéria orgânica.

Tabela 4. Comprimento de micélio total (m g-1 de solo) de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-aruana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Tratamento	<i>B. brizantha</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	4,2 Bc	6,61 Bb	16,19 Ac
<i>G. clarum</i>	8,65 Ba	10,13 Bb	25,96 Ab
<i>G. clarum</i> + RB	10,54 Ca	19,68 Ba	52,33 Aa
Tratamento	<i>B. maximum-aruana</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	2,3 Ba	3,56 Bb	8,72 Ac
<i>G. clarum</i>	4,66 Ba	5,46 Bb	13,98 Ab
<i>G. clarum</i> + RB	5,68 Ca	10,60 Ba	28,18 Aa
Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>		

	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	2,80 Bb	4,45 Bb	10,90 Ac
<i>G. clarum</i>	5,82 Bab	6,82 Bb	17,47 Ab
<i>G. clarum</i> + RB	7,10 Ca	13,25 Ba	35,22 Aa

*14,2 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,142 kg de calcário por vaso, 28,5 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso e 42,7 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso; N.I: tratamento sem inoculação; *G. clarum*: inóculo micorrízico de *Glomus clarum*, *G. clarum*+RB: inóculo micorrízico de *Glomus clarum* e rizobactérias. **Letra maiúscula compara linhas, letra minúscula colunas dentro de cada. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (n=15).

Os FMAs e bactéria diazotróficas têm ampla ocorrência em áreas degradadas e por fazerem associações com vários gêneros de gramíneas contribuem para o desenvolvimento vegetal. Kelly et al (2005), em experimento com toxicidade de Al, concluiu que espécies de FMAs do gênero *Glomus* pode influenciar na tolerância de *Andropogon virginicus*, variando os mecanismos que operam na simbiose sob o estresse ambiental. A espécie *G. clarum*, a mesma espécie de FMA utilizada neste estudo, individualmente ou com rizobactérias promoveu maior ocorrência de FMAs na raiz, o que acabou refletindo na fertilidade da planta.

Os teores de P na parte aérea não diferiram, em média, entre os genótipos de braquiarias estudados. A inoculação de *G. clarum* promoveu melhor nutrição fosfata (teores de entre 0,006 e 0,008 mg kg⁻¹) em *B. brizantha* e *B. maximum Marandu*. Observou-se ainda uma tendência de aumento no teor de P no tecido vegetal com o aumento da dose de calcário nos tratamentos sem inoculação. A inoculação melhorou a nutrição fósforo das braquiarias em todas as doses de calcário (Tabela 5).

Tabela 5: Teores de fósforo (P) mg Kg⁻¹, da parte aérea de *Brachiaria brizantha* *Brachiaria maximum-aruana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Tratamento	<i>B. brizantha</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	0,001Bb	0,003Bb	0,005Ab
<i>G. clarum</i>	0,006Aa	0,007Aa	0,006Aa
<i>G. clarum</i> + RB	0,003Ab	0,004Ab	0,004Ab
Tratamento	<i>B. maximum-aruana</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹
N.I.	0,001Bab	0,004Bb	0,008Aa
<i>G. clarum</i>	0,006Ba	0,003Ab	0,003Aba
<i>G. clarum</i> + RB	0,003Bb	0,006Aa	0,004Ba
Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>		
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹

N.I.	0,001Bb	0,003ABb	0,004Ab
<i>G. clarum</i>	0,006Ba	0,007Ba	0,008Aa
<i>G. clarum + RB</i>	0,002Bb	0,003Aa	0,006Bb

*14,2 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,142 kg de calcário por vaso, 28,5 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso e 42,7 ton.ha⁻¹ da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso; N.I: tratamento sem inoculação; *G. clarum*: inóculo micorrízico de *Glomus clarum*, *G. clarum+RB*: inóculo micorrízico de *Glomus clarum* e rizobatérias. **Letra maiúscula compara linhas, letra minúscula colunas dentro de cada. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si (n=15).

Em áreas de minas de carvão com toxicidade de Cu, As e Cd, Chen et al (2007), testou a espécie de FMA *G. mosseae* em *Coreopsis drummondii* e *Pteris vittata*, juntamente com *Lolium perenne* e observou que a inoculação incrementou a biomassa das plantas, melhorando a nutrição de P e diminuindo a toxicidade com metais, indicando a inoculação com FMAs para restauração ecológica de áreas com rejeito carbonífero.

Entre os fatores que determinam o sucesso da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) estão a disponibilidade de P e a acidez do solo que influencia qualitativa e quantitativamente as micorrizas. A calagem pode reduzir a formação de micorrizas como observado por Rheinheimer e Kaminski (1994), pois a elevação do pH tem efeitos adversos sobre a infectividade dos fungos que podem ou não estar adaptados às condições ácidas do solo. Conforme Siqueira et al. (1986), os FMAs apresentam comportamento diferenciado com o aumento do pH, o género *Glomus* apresentou melhor desempenho em solo ácido, aumentando a colonização micorrízica e o rendimento da cultura.

Os teores de N nos genótipos de braquiária estudados variaram com a inoculação e com a calagem. O genótipo Marandu apresentou maiores teor de N quando inoculado com *G. clarum* (0,005 mg Kg⁻¹).

Solos que passaram pela extração de carvão a céu aberto, originam solos reconstruídos com características indesejáveis, como acidez elevada, desestruturação física e baixa atividade biológica. A principal reação química responsável pela contaminação do solo é a oxidação da pirita (FeS₂) em presença de água e O₂, que tem alto poder de acidificação da área reconstruída, solubilizando alguns elementos tóxicos para as plantas, sendo necessárias elevadas quantidades de corretivos para neutralizar a acidez do solo (Soares et al., 2006). A alta acidificação do solo utilizado para este experimento teve influencia na comunidade microbiana e no rendimento vegetal. A recomendação de 42,7 ton.ha⁻¹ foi mais eficiente praticamente em todas as variáveis avaliadas do experimento, ressaltando o estudo realizado por Maçaneiro (2001), onde a calagem é uma das práticas necessárias em áreas mineradas para sua recuperação, estes fatores

são um conjunto que deve ser aplicado como uma forma eficiente para o estabelecimento vegetal e auto-manutenção futura da área.

Para os resultados obtidos em Lauro Müller com os genótipos de braquiárias, a colonização micorrízica e o comprimento de micélio obtiveram maiores resultados com FMAs, mas também das maiores doses de calcário. A comunidade microbiana do solo também é afeta com a mineração de carvão a céu aberto que prejudica os atributos do solo e sua biota, portanto a calagem também foi uma forma de amenizar os estresses edáficos e aumentar a atividade dos microrganismos. Taheri et al (2010), testou condições de adaptação de *Plantago lanceolata* L. em solo originado de mina de carvão e observou que as plantas cultivadas em solos com rejeito carbonífero apresentaram biomassa reduzida, e que o estresse edáfico aumentou a atividade do fungo na planta, pois ambos estavam em ambiente precário a associação foi significativa porém os resultados obtidos de colonização em Lauro Müller indicaram que a menor dose de calagem não diferenciou os tratamentos com inoculantes. Porém nas recomendações de 28,5 e 42,7 ton.ha⁻¹ de calcário os microrganismos tiveram maior presença na raiz.

CONCLUSÕES

- A co-inoculação de *G.clarum*+rizobactéria contribuiu para o incremento de biomassa seca dos genótipos de braquiária;
- Os genótipos de braquiária apresentaram maior produção de biomassa, maior percentual de colonização micorrízica do sistema radicular e maior produção de micélio extra-radicular na dose de 42,7 ton ha⁻¹ de calcário
- A inoculação promoveu a nutrição fosfatada das braquiárias em qualquer dose de calcário utilizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BALDANI, V. L. Protocolo para a análise da qualidade e eficiência agronômica de binoculantes, estirpes e outras tecnologias relacionadas ao processo de fixação biológica do nitrogênio em plantas não leguminosas. In: CAMPO, R. J. e HUNGRIA, M. (Org.) XIII Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação de Inoculantes Microbianos de

Interesse Agrícola (RELARE). Londrina: Embrapa Soja, 2007. 212 p. (Documentos – Embrapa Soja, n. 290).

2. BARNHISEL, R.I.; POWELL, J.L.; AKIN, G.W. e EBELHAR, M.W. Characteristics and reclamation of acid sulfate mine spoil. In: KITTRICK, J.A.; FANNING, D.S. e HOSSNER, L.R., eds. Acid sulfate weathering. Madison, Soil Scie. Soc. Amer., 1982. p.37-56.
3. CAMPOS, M.L., ALMEIDA, J.A., SILVEIRA, K C.B. , GATIBONI, L.C., ALBUQUERQUE, J.A., MAFRA, A.L., MIQUELLUTI, D.J., KLAUBERG FILHO, O, SANTOS, J.C.P. Impactos no solo provocados pela mineração e depósito de rejeitos de carvão mineral. R. de Cie. Agro. 9:198-205, 2010.
4. CHEN, B.D., ZHU, Y.-G., DUAN, J., XIAO, X.Y., SMITH, S.E. Effects of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on growth and metal uptake by four plant species in copper mine tailings. Environ. Pol. 147: 374-380, 2007.
5. DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas. Brasília: EMBRAPA – SPI; Itaguaí: EMBRAPA – CNPAB, 1995. 60 p.
6. GIOVANNETTI, M. e MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phyt., 84:489-500,1980.
7. KELLY, C. N., MORTON, J. B. e CUMMING, J. R. Variation in aluminum resistance among arbuscular mycorrhizal fungi. Mycorrhiza 15:193–201, 2005.
8. KOSKE, R.E. e GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. Mycol. Reser., 92:486-505, 1989.
9. LUNARDI NETO, A, ALBUQUERQUE, J.A., ALMEIDA, J.A. MAFRA, A.L., MEDEIROS, J.C. & ALBERTON, A. Atributos físicos do solo em área de mineração de carvão influenciados pela correção da acidez, adubação orgânica e revegetação. R. Bras. Ci. Solo, 1379-1388, 2008
10. MAÇANEIRO, K. C. Efeito da calagem e da adubação orgânica no estabelecimento de gramíneas em área de solo construído após mineração de carvão a céu aberto em Lauro Müller, SC. 2001. 58 p. (Dissertação de Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia - CAV-UDESC. Lages, SC.
11. MASCHIO, L.; GAIAD, S.; MONTOYA, L.; CURCIO, G.R.; RACHWALL, M.F.G.; CAMARGO, C.M.S.; BATTI, A.M.B. Microrganismos e auto-sustentação de ecossistemas em solos alterados. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO

- DE ÁREAS DEGRADADAS, 1992, Curitiba. Anais.Curitiba: UFPR/Fundação de P. Flores. do Paraná 1992. p.440-445.
12. MELLONI, R. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. ESALQ, 1996. p. 83 (Dissertação de mestrado)
13. MELLONI, R.; SIQUEIRA, J.O. e MORREIRA, F.M.S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. P. Agrop. Bras. 38: 267-276, 2003.
14. O'SHAY, T., HOSSNER, L.R. e DIXON, J.B. A modifield hydrogen peroxide oxidation method for determination of potencial acidity in pyritic overburden. J. Environ. Qual., 19:778-782, 1990.
15. PINTO, L.F.S. Potencial de acidificação e neutralização dos materiais geológicos para a composição do solo construído em áreas de mineração de carvão. UFRGS, Porto Alegre (Doutorado em Agronomia-Ciências do Solo), 1997.186p.
16. RHEINHEIMER, D.S., KAMINSKI, J. Resposta do Capim- Pensacola à adubação fosfatada e à micorrização em solo com diferentes valores de pH. R Brás Ci Solo, Campinas, v. 18, p. 201-205,1994.
17. RILLING, C. M. e MUMMEY, D. Mycorrhizas and soil structure. New Phitol., 171: 41-53, 2006.
18. RODRIGUES, E. P. Caracterização fisiológica de estirpes de *Azospirillum amazonense* e avaliação dos efeitos da inoculação em plantas de arroz inundado (*Oryza sativa* L.). 2004. 66 p. Dissertação (Mestrado-Agronomia) – Programa de Pós-graduação em Agronomia,Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2004.
19. RUSSO S.E, BROWN P, TAN S, DAVIES S.J. Interspecific demographic trade-offs and soil-related habitat associations of tree species along resource gradients. J. Eco. 96: 192–203. 2008.
20. SANCHES, J.C.D. e FORMOSO, M.L.L. Utilização do carvão e meio ambiente. Boletim Técnico. Porto Alegre, n20, 34p, 1990.
21. SIQUEIRA, J.O., MAHMUD, A.W., HUBBELL, D.H. Comportamento diferenciado de fungos formadores de micorrizas vesfculo-arbusculares em relação à acidez do solo. R Brás Ci Solo, 10:11-16, 1986.
22. SIQUEIRA, J.O.; ACCIOLY, A.M.A. Contaminação química e biorremediação do solo. Tópicos em ciência do solo, Vol I, 2000.
23. TAHERI, W.I. E BEVER, J.D. Adaptation of plants and arbuscular mycorrhizal fungi to coal tailings in Indiana. AP. Soil Ecol., 2010.

24. TEDESCO, M.J., VOLKWEISS, S.J., BOHNEN, H. Análises de solos, plantas e outros materiais. Porto Alegre: UFRGS, 1995.