

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM MANEJO DO SOLO

GESSIANE CEOLA

FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA RECUPERAÇÃO DE
ÁREAS MINERADAS NO MUNICÍPIO DE LAURO MÜLLER, SUL DE
SANTA CATARINA

Dissertação apresentada como requisito final para obtenção do título de mestre no Curso de Pós-Graduação em Manejo do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Orientador: Dr. Osmar Klauberg Filho

LAGES – SC

2010

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14^a Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Gessiane Ceola

Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de áreas mineradas no Município de Lauro Müller, Sul de Santa Catarina / Gessiane Ceola; orientador: Osmar Klauberg Filho. – Lages, 2011. 96p.

Inclui referências.

Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias / UDESC.

1. Fungos micorrízicos arbusculares. 2. Mineração de carvão.
3. Gramíneas. 4. Índices de diversidade. 5. Co-inoculação.
I. Título.

CDD – 631.417

GESSIANE CEOLA

**FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NA RECUPERAÇÃO DE
ÁREAS MINERADAS NO MUNICÍPIO DE LAURO MÜLLER, SUL DE
SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada como requisito final para obtenção do título de mestre no Curso de Pós-Graduação em Manejo do Solo da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Aprovado em: 20/12/2010

Homologado em: / /2011

Banca Examinadora:

Orientador/presidente: Dr. Osmar Klauberg
Filho
(UDESC/Lages - SC)

Dr. Luciano Colpo Gatiboni
Coordenador Técnico do Curso de Mestrado
em Ciência do Solo e Coordenador do
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Agrárias – UDESC/Lages – SC

Membro: Dr Júlio Cesar Pires Santos
UDESC/Lages – SC

Membro: Dr Mari Lúcia Campos
UDESC/Lages – SC

Membro: Dr David José Miquelluti
UDESC/Lages - SC

Membro: PhD. Sidney Luiz Stürmer
(FURB)

Dr. Cleimon Eduardo do Amaral Dias
Diretor Geral do Centro de Ciências
Agroveterinárias – UDESC/Lages – SC

Lages, Santa Catarina
20 de dezembro de 2010

A minha avó Anna Anacleto por sua presença constante na minha vida, **DEDICO**.

Aos meus pais Isolete e Inácio, pelo incentivo e exemplo, **OFEREÇO**.

AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta etapa acadêmica, muitas pessoas foram essenciais. E a estas minha eterna e fiel gratidão:

- A Deus pelas forças explicáveis e inexplicáveis que regem minha vida;
- A minha família: irmãos e principalmente meus pais pela educação, oportunidades e sacrifícios. Mas especialmente pelo amor que nunca me deixaram faltar;
- Ao meu conselheiro e orientador Osmar Klauberg-Filho pela orientação, amizade e exemplo de profissionalismo;
- Ao professor Júlio Cesar Pires Santos pelo exemplo de profissional realizado e feliz, que sempre me fez acreditar que vale a pena;
- Ao meu ex-orientador Sidney L. Stürmer que me inseriu na microbiologia do solo e me ensinou a ter amor pelas micorrizas. Principalmente obrigada pelos puxões de orelha tão essenciais na minha vida como pesquisadora;
- Ao professor David José Miquelluti pela paciência e análises estatísticas que tornaram este projeto significativo para a ciência;
- A professora Mari Lúcia Campos pela ajuda e prontidão nos trabalhos a campo, na elaboração e andamento do projeto;
- Aos professores Paulo Cesar Cassol, Paulo Roberto Ernani, Jackson Albuquerque, João Fert Neto, Cleimon Amaral, Chistian Berto da Silveira, Luciano Colpo Gatiboni e Álvaro Luis Mafra pelo aprendizado e convivência;
- Aos meus colegas de pós (mestrado, doutorado), que foram muitos. O meu muito obrigado pelas horas de sala de aula, conversas e risadas. Alguns se tornaram queridos colegas, outros se tornaram grandes amigos, por isso um obrigada mais que especial para: Dayana, Dennis, Elaine, Jeferson, Ronaldir, Vitor e Zalamena;
- Ao Laboratório de Microbiologia e Fauna do Solo e todas as pessoas que conviveram este período comigo: Bonafé, James, Elaine, Dayse, Sabrina, Celso, Robson, Anelize, Duane, Vinícius, Brunetto, Janaina, Dennis, Paula, Diego, Luiz e em especial a Dalciana e a Francieli que me salvaram nas horas que mais precisei;

- A Elaine B.C. Bornhausen e família pelo acolhimento e carinho. Minha fortaleza. Uma família muito especial;
- A Myrcia Minatti e a Alessandra Muniz pela amizade, por me segurarem nas horas mais difíceis e também pelos incontáveis momentos de alegria. Com certeza nossos netos ficarão surdos de tantas histórias;
- A Susan e a Dianessa por morarem comigo durante este período e por dividirem vários momentos;
- Ao Programa de Pós-Graduação do Mestrado em Manejo do Solo pela oportunidade e aos funcionários CAV/UDESC que contribuíram para a realização deste projeto;
- Ao PROMOP e a CAPES pela concessão das bolsas de estudo;
- A Carbonífera Catarinense, pela ajuda nas coletas e pelas áreas disponibilizadas para o estudo;
- E a todos que se sentem responsáveis pela realização deste projeto:

Meu sincero obrigado!

RESUMO

A mineração de carvão a céu aberto causa graves problemas ambientais. A deposição dos estéreis e rejeitos nas cavas ocasiona a contaminação do solo construído com pirita, gerando problemas de acidificação e de perdas de nutrientes. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são componentes da biota do solo e essenciais a sustentabilidade dos ecossistemas e ao estabelecimento de plantas em programas de revegetação em áreas degradadas e ou contaminadas. Considerando a hipótese de que o processo de reconstrução dos solos atualmente utilizado na recuperação de áreas degradadas pode eliminar ou diminuir as populações de fungos micorrízicos arbusculares e que estes são importantes componentes do processo de recuperação foi realizado um primeiro estudo (capítulo 1) com o objetivo de avaliar a ocorrência e a diversidade de FMAs em áreas degradadas ou recuperadas após mineração de carvão a céu aberto no município de Lauro Müller-SC. Dentre as espécies de FMAs encontradas nas áreas de estudo, sete foram recuperadas através de vasos de culturas armadilhas: *Acaulospora* sp., *A. foveata*, *A. mellea*, *A. scrobiculata*, *Glomus* sp., *Glomus clarum* e *Gigaspora* sp., e quatro espécies no campo: *Acaulospora koskei*, *Entrophospora colombiana*, *Paraglomus occultum* e *Scutelospora heterogama*. Em Ag e Bd, apenas uma espécie foi encontrada, *S. heterogama* e *E. colombiana*, respectivamente. Em Ab observou-se *E. colombiana* e *P. occultum*. A ACD indicou a colonização radicular como principal atributo microbiológico discriminante entre as áreas estudadas. A baixa diversidade e o baixo número de esporos de FMAs observados nas áreas sugere a necessidade do estabelecimento de programas de inoculação destes fungos em plantas como estratégia de revegetação dos solos construídos após a mineração de carvão no Sul de Santa Catarina.

A inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e de rizobactérias promotoras de crescimento (RBPC) constitui estratégia importante na revegetação de solos reconstruídos ou mesmo de áreas com deposição superficial de estéril foi realizado um segundo estudo (capítulo 2) teve o objetivo de avaliar o efeito da inoculação de FMAs e sua co-inoculação com RBPC no crescimento de espécies de *Brachiaria* em estéril de mineração de carvão. A co-inoculação de *G. clarum* + rizobactéria contribuiu para o incremento de biomassa seca dos genótipos de braquiária. A inoculação com *G. clarum* promoveu a nutrição das plantas. A dose de 42,7 ton ha⁻¹ de calcário promoveu maior biomassa e colonização 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, índices de diversidade, co-inoculação.

ABSTRACT

The surface coal mining causes serious environmental problems. The deposition of sterile and tailings in pits causes the contamination of constructed soil with pyrite, creating problems of acidification and nutrient losses. Arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) are components of soil biota and are essential for ecosystem sustainability and the establishment of plants in revegetation programs in degraded areas or polluted. Considering the hypothesis that the reconstruction process of soil currently used in recuperation of degraded areas can eliminate or reduce populations of arbuscular mycorrhizal fungi and these are important components of the recovery process was performed a first study (Chapter 1) with the aim to assess the occurrence and diversity of AMF on degraded or recovered areas after surface coal mining in Lauro Müller City, Santa Catarina State. The hypothesis that the inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and growth promoting rhizobacteria is an important strategy in the revegetation of reconstructed areas or even from reconstructed areas with sterile surface deposition was conducted a second study (Chapter 2) with the aim to assess the effect of inoculation with AMF and its co-inoculation with growth promoting rhizobacteria in the growth of *Brachiaria* in sterile coal mining. Among the AMF species found in the study areas, seven were recovered by trap culture: *Acaulospora* sp., *A. foveata*, *A. mellea*, *A. scrobiculata*, *Glomus* sp. *Glomus clarum* and *Gigaspora* sp., and four species in the field: *Acaulospora* Koski, *Entrophospora colombiana*, *Paraglomus occultum* and *Scutelospora heterogama*. In Ag and Bd, only one species was found - *S. heterogama* and *E. Colombia*, respectively. In Ab was found *E. Colombiana* and *P. occultum*. The ACD indicated that root colonization as the main microbiological attribute discriminating among the studied areas. The low diversity and low number of AMFs observed in the areas suggests the need to establish programs of inoculation of these fungi in plants as a strategy revegetation of constructed soil after surface coal mining in southern Santa Catarina State. The co-inoculation of rhizobacteria + *G.clarum* 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 mass and microbial activity in the roots of plants. Therefore the use of inoculants can be indicated for revegetation with *Brachiaria* in mining areas in Lauro Müller City, Santa Catarina State.

KEY WORDS: arbuscular mycorrhizal fungi, coal mining, grasses diversity index, co-inoculation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 -	Número de esporos (NE), abundância relativa (AR), riqueza de espécies de FMAs em terrenos reconstruídos após mineração de carvão no distrito de Lauro Müller-SC.....	55
Tabela 02 -	Índice de Simpson (Is), Dominância de Simpson (Ds) e Índice de diversidade de Shannon (H) de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), nos terrenos construídos após mineração de carvão com <i>Brachiaria decumbens</i> (Bd), com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn).	56
Tabela 03 -	Coeficientes canônicos padronizados (CCP), coeficientes de correlação linear (r) e taxa de discriminação paralela (TDP) das variáveis estudadas em relação aos dois primeiros eixos canônicos. Amostragem em março de 2009, Lauro Müller, SC (n=20).....	63
Tabela 04 -	Coeficientes canônicos padronizados (CCP), coeficientes de correlação linear (r) e taxa de discriminação paralela (TDP) das variáveis estudadas em relação aos dois primeiros eixos canônicos. Amostragem em março de 2010, Lauro Müller, SC (n=20).....	63
Tabela 05 -	Massa seca da parte aérea (g) de <i>Brachiaria brizantha</i> , <i>Brachiaria maximum-arauana</i> e <i>B. maximum-marandu</i> em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.....	74
Tabela 06 -	Massa seca da raiz (g) de <i>Brachiaria brizantha</i> , <i>Brachiaria maximum-arauana</i> e <i>B. maximum-marandu</i> em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.....	75
Tabela 07 -	Colonização micorrízica (%) de <i>Brachiaria brizantha</i> , <i>Brachiaria maximum-arauana</i> e <i>B. maximum-marandu</i> em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.....	76
Tabela 08 -	Comprimento de micélio total (metros/grama de solo) de <i>Brachiaria brizantha</i> , <i>Brachiaria maximum-arauana</i> e <i>B. maximum-marandu</i> em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.....	77
Tabela 09 -	Teores de fósforo (P) mg Kg ⁻¹ , da parte aérea de <i>Brachiaria brizantha</i>	

Brachiaria maximum-aruaana e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário..... 77

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 -	Áreas de estudo no município de Lauro Müller, SC.....	51
Figura 02 -	Frequência de ocorrência das espécies de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) em vasos de cultura armadilha nas áreas de mineração de carvão em Lauro Müller-SC, no anos de 2009 e 2010.....	57
Figura 03 -	Colonização radicular (%) de fungos micorrízicos arbusculares nos solos construídos após mineração de carvão com <i>Brachiaria decumbens</i> (Bd), em área com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn).....	59
Figura 04 -	Comprimento de micélio extra-radicular total (metros por grama de solo) de fungos micorrízicos arbusculares nos solos construídos após mineração de carvão com <i>Brachiaria decumbens</i> (Bd), em área com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn), nos anos de 2009 e 2010.....	60
Figura 05 -	Potencial de inóculo (%) de fungos micorrízicos arbusculares nos solos construídos após mineração de carvão com <i>Brachiaria decumbens</i> (Bd), em área com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn), nos anos de 2009 e 2010.....	61
Figura 06 -	Relação entre a primeira e segunda função canônica discriminante (CAN1 e CAN2) para os atributos microbiológicos nos solos construídos após mineração de carvão, com <i>Brachiaria decumbens</i> (Bd), com uso agrícola (Ag), abandonado (Ab) e em área de pastagem natural (Pn), em março de 2009. Lauro Müller, SC.....	64
Figura 07 -	Relação entre a primeira e segunda função canônica discriminante (CAN1 e CAN2) para os atributos microbiológicos nos solos construídos após mineração de carvão, com <i>Brachiaria decumbens</i> (Bd), com uso agrícola (Ag), abandonado (Ab) e em área de pastagem natural (Pn), em março de 2010. Lauro Müller, SC.....	64
Figura 08 -	Coefficientes canônicos padronizados (CCP), coeficientes de correlação linear (r) e taxa de discriminação paralela (TDP) das variáveis estudadas em relação aos dois primeiros eixos canônicos. Amostragem em março de 2010, Lauro Müller, SC (n=20).....	73

LISTA DE QUADROS

Quadro 01 - Estudos de ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em áreas degradadas.....	31
Quadro 02 - Ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em áreas de mineração de carvão.....	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1 MINERAÇÃO DE CARVÃO NO SUL DO BRASIL.....	18
2.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DO CARVÃO.....	20
2.3 REAÇÕES DA PIRITA.....	21
2.4 RECUPERAÇÃO AMBIENTAL DE ÁREAS MINERADAS.....	23
2.5 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E RIZOBACTÉRIAS EM ÁREAS DEGRADADAS PELAS MINERAÇÃO.....	26
2.6 GRAMÍNEAS EM ÁREAS DE RECUPERAÇÃO DE MINERAÇÃO DE CARVÃO.....	41
3 CAPÍTULO 1.....	45
3.1 INTRODUÇÃO.....	47
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
3.4 CONCLUSÕES.....	66
4 CAPÍTULO 2.....	67
4.1 INTRODUÇÃO.....	69
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	71
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
4.4 CONCLUSÕES.....	81
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
6 REFERÊNCIA BIBLIGRÁFICAS.....	83

1. INTRODUÇÃO GERAL

As reservas de carvão passíveis de serem mineradas a céu aberto no Brasil são da ordem de 1 bilhão de toneladas, com uma camada de cobertura de estéril que cobre o minério de até 50 metros. As reservas de carvão mineral no Brasil estão concentradas nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, com 28,8 e 3,36 bilhões de toneladas, respectivamente (89,0 e 10,5% do estoque do País), para um total das reservas brasileiras de 32,6 bilhões. Esses estoques correspondem a 50 % dos recursos energéticos não renováveis do País.

A exploração de carvão na Bacia Sul – Catarinense ocorre há mais de um século. Em virtude da exploração inadequada, no início da década de 80 o governo federal reconheceu a região sul de Santa Catarina como área de risco ambiental, porém nenhuma medida concreta foi adotada até o ano de 2000 quando o ministério público estadual, através de uma ação pública condenou a união e o Sindicato das Indústrias pelo passivo ambiental de 96 milhões de dólares, obrigando-os a adotar normas mais rígidas de reconstrução das áreas mineradas, além de recuperar, em três anos, as áreas já degradadas anteriormente pela atividade. Após o ano 2000 o processo de reconstrução topográfica passou a seguir a regulamentação do Departamento Nacional de Produção Mineral, entretanto, nas áreas mais antigas, os mais diferentes métodos são encontrados, desde a reconstrução topográfica e revegetação até a simples deposição do rejeito em superfície.

A Bacia Carbonífera Catarinense apresenta um total de 319,17 hectares de áreas impactadas por mineração de carvão a céu aberto e 174,38 ha de áreas com depósito de rejeito da mineração, totalizando 493,55 ha. Quanto à cobertura do solo apresenta 237,87 ha revegetados e 175,49 ha de áreas com rejeito ou minerada a céu aberto expostos. O distrito de Lauro Muller apresenta 319,17 hectares de áreas de mineração de carvão a céu aberto e 174,38 ha de áreas com depósito de rejeito da mineração, totalizando 493,55 ha de áreas degradadas. Por isso, constitui o 6º distrito, em termos de área impactada, dentre os 17 distritos da classificação. Quanto à cobertura do solo apresenta 237,87 ha. revegetados e 175,49 ha. de áreas com rejeito ou minerada a céu aberto expostos.

Em muitas das áreas recuperadas do distrito o índice de cobertura vegetal ainda é baixo indicando que as espécies não estão bem adaptadas ao ambiente e que parte do substrato está a descoberto. O processo de revegetação não é executado em todas as áreas de Santa

Catarina de sendo necessário o plantio de espécies que cubram o solo. O desenvolvimento de tecnologias de baixo custo e impacto ambiental que possibilitem o estabelecimento, crescimento e manutenção da cobertura vegetal constituem importante etapa para o sucesso de qualquer programa de recuperação de áreas degradadas

A presença de minerais sulfetados nestas áreas gera um dos principais impedimentos ao processo de revegetação: a acidificação do solo por oxidação da pirita, ocasionando a chamada drenagem ácida de mina. A alta concentração de ácido formado é suficiente para a dissolução dos minerais da matriz do solo ou material de origem, liberando para o ambiente, além da acidez, grande quantidade de metais pesados e causando a perda de nutrientes.

Uma das alternativas empregadas na recuperação de áreas degradadas é a revegetação que consiste no uso de plantas e promoção do crescimento vegetal. Esta técnica apresenta inúmeras vantagens, dada a sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, à proteção contra a erosão eólica e hídrica, à melhoria na estrutura do solo, ao aumento da fertilidade do solo e a recuperação da estética das áreas contaminadas. A revegetação é um processo amplamente utilizado para recuperação de áreas mineradas, porém pouco se conhece sobre os processos que os microrganismos do solo desempenham na proteção das plantas em solos contaminados com metais e com problemas de acidificação, poluição orgânica, dentre outros problemas. Dentre estes microrganismos se destacam os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que formam associação simbiótica com a maioria das espécies vegetais e as rizobactérias promotoras de crescimento

Entretanto, há a necessidade de se avaliar a ocorrência destes fungos e a ação benéfica da simbiose micorrízica em outras situações de solos contaminados com rejeitos piritosos nas áreas de mineração no sul de Santa Catarina, onde são encontrados cerca de 5.000 ha de áreas degradadas pela atividade de mineração de carvão estando 2/3 dos cursos d'água da região comprometidos pela drenagem ácida de mina e a sulfurização (ALEXANDRE e KREBS, 1995; IPAT-UNESC, 2000, 2001, 2002 e 2003).

A diversidade e a atividade microbiana do solo constituem fatores importantes na sustentabilidade dos ecossistemas. A redução da comunidade microbiana, com eventual extinção de espécies de microrganismos promotores de crescimento com é o caso dos FMAs e de rizobactérias, pode acarretar não só a perda de importantes funções do solo e de estirpes inoculantes potenciais, mas também reduzir a habilidade dos sistemas naturais de superar os estresses.

Considerando a hipótese de que o processo de construção dos solos atualmente

utilizado na recuperação de áreas degradadas pode eliminar ou diminuir as populações de fungos micorrízicos arbusculares e que estes são importantes componentes do processo de recuperação foi realizado um primeiro estudo (capítulo 1) com o objetivo de avaliar a ocorrência e a diversidade de FMAs em áreas degradadas ou recuperadas após mineração de carvão a céu aberto no município de Lauro Müller-SC.

Considerando a hipótese de que a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e de rizobactérias promotoras de crescimento (RBPC) constitui estratégia importante na revegetação de solos construídos ou mesmo de áreas com deposição superficial de estéril foi realizado um segundo estudo (capítulo 2) com o objetivo de avaliar o efeito da inoculação de FMAs e sua co-inoculação com RBPC no crescimento de espécies/variedades de *Brachiaria* em estéril de mineração de carvão.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. MINERAÇÃO DE CARVÃO NO SUL DO BRASIL

As reservas de carvão mineral no Brasil estão concentradas nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, com 28,8 e 3,36 bilhões de toneladas, respectivamente (89,0 e 10,5% do estoque do País), para um total das reservas brasileiras de 32,6 bilhões. Esses estoques correspondem a 50 % dos recursos energéticos não renováveis do país, enquanto que o petróleo e o gás natural correspondem, respectivamente, a 10% e 3% dos recursos energéticos brasileiros. As reservas de carvão passíveis de serem mineradas a céu aberto no Brasil, são da ordem de 1 bilhão de toneladas, com uma camada de cobertura de estéril que cobre o minério de até 50 metros. A tecnologia empregada está atualizada com o estado da arte do setor e o carvão bruto apresenta um poder calorífico baixo, da ordem de 3200 kcal/kg e 53% de teor de cinzas, em base seca (CRM, 2004). A mineração de carvão no Brasil exerce um papel importante do ponto de vista econômico, contribuindo indiretamente com 60% do Produto Interno Bruto (PIB) no país (LOPES, 1998).

Historicamente no Brasil, somente depois de 1939 houve uma política voltada para a extração de carvão, mas foi no ano de 1945 após a instalação da Companhia Siderúrgica Nacional, que o carvão assumiu destaque no cenário brasileiro (SCHNEIDER et al., 2000). Na crise energética de 1970, a atividade mineradora esteve ameaçada, colocando em risco a economia nacional, porém, a execução de um Plano Energético Federal para impulsionar a retomada e a ampliação das atividades de mineração de carvão, instituiu alternativas que considerassem atentamente a demanda energética da região Sul do país (NUNES, 2002).

Especificadamente, a exploração de carvão na Bacia Sul – Catarinense ocorre há mais de um século. Em virtude da exploração inadequada, no início da década de 80 o governo federal reconheceu a região sul de Santa Catarina como área de risco ambiental, porém nenhuma medida concreta foi adotada. Durante a década de 90, alguns projetos governamentais de recuperação da região foram executados, porém sem muito êxito

(NASCIMENTO et al., 2002). Em 2000, foram criados dois programas governamentais: o Programa Nacional de Incentivo ao Uso do Carvão para Fins Energéticos, com objetivo de ampliar a utilização do carvão e recuperar áreas carboníferas degradadas e o Programa Prioritário de Termelétricidade 2000- 2003. (CETEM, 2002). Neste mesmo ano, o Ministério Público Estadual, através de uma ação pública (nº 93.8000533-4), condenou a União e o Sindicato das Indústrias Carboníferas a pagar multa de 96 milhões de dólares pelo passivo ambiental existente. Também obrigou a adoção de normas mais rígidas de construção das áreas mineradas e a recuperação, em três anos, das áreas já degradadas anteriormente pela atividade. Assim, toda atividade de mineração ocorrente após o ano 2000 foi realizada sob as normas de um Termo de Ajuste de Conduta (TAC) e conta com o processo de construção topográfica regulamentado pelo DNPM. Porém, nas áreas mais antigas, os mais diferentes métodos são encontrados, desde a reconstrução topográfica e revegetação até a simples deposição do rejeito em superfície.

No SEGUNDO RELATÓRIO DE MONITORAMENTO DOS INDICADORES AMBIENTAIS (2008), apresentado ao ministério público de Santa Catarina, as áreas de mineração da Bacia Carbonífera Sul de SC foram classificadas em função do tipo de impacto. Para efeito de análise dos impactos ambientais, controle e monitoramento, elas foram mapeadas em distritos, cujo critério de agrupamento leva em conta a proximidade das áreas impactadas. A Bacia Carbonífera possui, então, 17 distritos sendo: MORRO DA PALHA, SIDERÓPOLIS, RIO HIPOLITO, CRICIÚMA NORTE, LAURO MÜLLER, CRICIÚMA SUL, BARRO BRANCO, LINHA BATISTA, SANTANA, MINA 4, FORQUILHA, SANGÃO, RIO CARVÃO, VERDINHO, TREVISÓ , IÇARA, RIO DESERTO e ESTIVA DOS PREGOS. O distrito de Siderópolis apresenta 982,28 hectares de áreas degradadas, ocupando o primeiro lugar. As reservas de carvão do estado de Santa Catarina concentram-se numa área alongada no sentido norte/sul, situada entre os municípios de Araranguá e Lauro Müller, com 70 km de comprimento por 15- 20 km de largura (CAMPOS, 2000). O distrito de Lauro Muller apresenta 319,17 hectares de áreas impactadas por mineração de carvão a céu aberto e 174,38 ha. de áreas com depósito de rejeito da mineração, totalizando 493,55 ha. de áreas degradadas. Por isso, constitui o 6º distrito, em termos de área impactada, dentre os 17

distritos da classificação. Quanto à cobertura do solo apresenta 237,87 ha. revegetados e 175,49 ha. de áreas com rejeito ou minerada a céu aberto expostos.

Em muitas das áreas recuperadas o índice de cobertura vegetal ainda é baixo indicando que as espécies não estão bem adaptadas ao ambiente e que parte do substrato está a descoberto. O processo de revegetação não foi executado em todas as áreas de Santa Catarina de sendo necessário o plantio de espécies que cubram o solo. O desenvolvimento de tecnologias de baixo custo e impacto ambiental que possibilitem o estabelecimento, crescimento e manutenção da cobertura vegetal constituem importante etapa para o sucesso de qualquer programa de recuperação de áreas degradadas (NASCIMENTO et al., 2002).

2.2. PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DO CARVÃO

A exploração do carvão mineral pode ser subterrânea ou a céu aberto. A mineração subterrânea implica em abertura de poços, planos inclinados, ou galerias de encosta, para extração do minério, transporte de materiais e de funcionários. Na mineração subterrânea, o método de câmaras e pilares é o mais utilizado no Brasil e consiste na abertura de um eixo principal de transporte, que pode ser constituído de duas ou mais galerias paralelas e, perpendiculares a esse, são traçados os painéis de produção, onde são abertas galerias de produção. Entre as fases de desenvolvimento são deixados pilares, os quais são retirados parcialmente na fase de recuo (KOPPE E COSTA, 2002).

Porém até 1990, a lavra a céu aberto era a atividade mais utilizada em Santa Catarina, e consiste nas operações de remoção da cobertura de material estéril e a extração da camada de carvão descoberta (KOPPE E COSTA, 2002). Assim, o método de lavra mais frequentemente utilizado no Brasil pode ser classificado de “Strip Mining”, com variações que dependem das diferentes maneiras de decapeamento em função do equipamento utilizado. Normalmente a cobertura e o carvão são lavrados em seqüência de cortes. O estéril removido de um corte é depositado dentro do vazio do corte anterior. As máquinas utilizadas no decapeamento são escavadeiras do tipo “Dragline” ou “Shovel”, escavadeiras “Bucktwell” e, ainda, equipamentos rodoviários como o “Moto-Scrapers” são utilizados quando o material inerte da cobertura é de natureza argilosa. Devido ao dano ambiental causado, o uso de escavadeiras tipo “Dragline” ou “Shovel” foi proibida no Estado de Santa Catarina no ano de 2002.

Independente da forma de extração, a mineração de carvão gera uma quantidade enorme de rejeitos, que são depositados em pilhas ou barragens próximas às áreas mineradas. De cada 1000 kg de material minerado, aproximadamente 600 kg é composto por “rejeitos e estéreis” que são depositados no entorno da área minerada (NASCIMENTO et al., 2002). O principal problema associado a esses materiais é que normalmente com o carvão mineral ocorrem também depósitos de pirita e outros minerais sulfetados. Esses minerais, quando expostos ao oxigênio e umidade, oxidam-se facilmente, gerando, entre outros produtos, ácido sulfúrico, sendo este responsável pela chamada Drenagem ácida de minas e a sulfurização (DAM).

2.3. AS REAÇÕES DA PIRITA

O principal impacto da atividade de mineração do carvão mineral é a drenagem ácida de minas. A pirita é reconhecida como a maior fonte de drenagem ácida, porém, esta pode também ser gerada por meio da oxidação de outros sulfetos, tais como a marcassita, esfarelita, arsenopirita e calcopirita (DAVIDSON et al., 1996; ORTIZ e TEIXEIRA, 2002).

Segundo Nordstrom (1982), a oxidação da pirita é um processo complexo, no qual reações de oxiredução, hidrólise e formação de íons complexos, controle da solubilidade e efeito cinético estão envolvidas e variam com as características físicas, químicas e biológicas do solo de cada local. No mecanismo de oxidação inorgânica da pirita ocorrem oxidação e hidrólise, na qual há a perda de um elétron pelo Fe, 14 elétrons do enxofre e ganho de $7 \frac{1}{2}$ elétrons pelo oxigênio por mol de pirita, e é exemplificada pela reação a seguir:



De acordo com a reação, a pirita mais água, na presença de oxigênio, resulta em hidróxido férrico insolúvel e ácido sulfúrico. No entanto grande parte do Fe (II), hidrogênio e íons sulfatos liberados durante a oxidação da pirita participam de várias outras reações no solo, tais como alteração na troca de cátions e no intemperismo de minerais. O Fe (II) é oxidado formando óxidos de Fe (III), além de participar da estrutura química da jarosita $\{\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6\}$ e de argilominerais (VAN BREEMEN, 1982). Parte do sulfato ácido presente na solução do solo é removido pela lixiviação acompanhado de um cátion, principalmente Ca, Mg e Na oriundos da fase trocável e do intemperismo de minerais (VAN

BREEMEN, 1982), resultando em perdas expressivas desses elementos. Assim, a drenagem ácida de minas intensifica o intemperismo dos minerais do sistema, sendo liberados na água grande quantidade de ferro e alumínio dos minerais primários, além de outros metais.

Em $\text{pH} \leq 3,0$ o Fe (III) oxida a pirita muito mais rapidamente que o Fe(II) pode ser oxidado pelo oxigênio. Portanto, inicialmente a pirita é oxidada pelo oxigênio, produzindo ácido e diminuindo o pH que, por conseqüência, vai tornando mais solúvel o Fe(III), que age como agente oxidante (NORDSTROM, 1982). Contudo, a pirita pode reduzir Fe (III) até Fe (II) mais rapidamente que o Fe (II) pode ser regenerado para Fe (III) pelo oxigênio, o que resultaria na paralisação da reação. Porém, a existência de bactérias como o *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Metallogenium* no ambiente, as quais usam enxofre elementar como fonte de energia, liberando ácido sulfúrico, e oxidando Fe (II) até Fe (III), realimentam o sistema, fornecendo Fe (III) para a oxidação da pirita. Assim, essas bactérias catalisam a reação, aumentando a razão de oxidação de 5 a 6 vezes em relação ao processo puramente inorgânico (CHI et al., 2006).

Um fator que acelera a oxidação química da pirita é a exposição do rejeito na superfície, porque o processo é aeróbico (MOSES et al., 1987). Desse modo, processos de construção de áreas mineradas a céu aberto, que promovem expressiva contaminação das camadas superficiais com resíduos piritosos de carvão, podem resultar em redução do pH. A diminuição do pH afeta o crescimento vegetal devido a presença de metais pesados como Fe, Al e Mn, fixação de P e redução da população de bactérias fixadoras de N.

A oxidação da pirita produz grande quantidade de sais solúveis. Solos de minas com concentrações de sais solúveis extraíveis em água maiores que $0,4 \text{ Sm}^{-1}$ são considerados tóxicos para as plantas e podem inibir a absorção de água e de nutrientes. Cabe ressaltar que culturas sensíveis às concentrações de sais podem ser afetadas por condutividades elétricas de $0,1 \text{ S m}^{-1}$ ou menores (DANIELS, 1996). Campos (2000) trabalhando com solos construídos pós-mineração de carvão encontrou valores de condutividade elétrica que variaram de $8,8\text{--}2460 \text{ mS m}^{-1}$ na profundidade de $0\text{--}0,2 \text{ m}$ em uma mesma área.

Em solos de minas, os sulfatos combinam-se com Ca, Mg e outros metais formando sais solúveis e o K precipita na forma de jarosita (BARNHISEL et al., 1982), o que pode levar a deficiência nas plantas destes cátions essenciais (DANIELS, 1996). Assim, os níveis de Ca, Mg e K, apresentados nas análises de solo nem sempre se correlacionam com a absorção e desempenho da comunidade vegetal em solos de mina. Este fato, juntamente com a extrema variabilidade do tipo de rocha mãe e solubilidade de seus minerais, dificultam as recomendações de doses de fertilizantes (DANIELS, 1996).

Os baixos teores de fósforo podem dificultar a revegetação das áreas reconstruídas. A disponibilidade de P diminui devido a dois fatores: (1) os materiais geológicos são geralmente pobres em P-disponível e (2) os solos de mina intemperizam e oxidam tornando-se enriquecidos em óxidos de Fe, os quais adsorvem especificamente P da solução, tornando-o assim indisponível para as plantas (DANIELS, 1996).

Como resultado da larga variação nos valores de pH encontrado nestes solos, a zona de crescimento das raízes pode conter níveis tóxicos de Al, Cu, Ni, Zn, Mn, Fe, Al, e S), e deficiência de Mo e B (DANIELS, 1996)

A temperatura é outro fator que interfere nas reações da pirita no solo, pois afeta não só a atividade das bactérias do gênero *Acidithiobacillus* spp, mas também a razão de oxidação da pirita pelo oxigênio, sendo que um aumento de 10° C na temperatura duplica a velocidade da reação (NORDSTROM, 1982).

Alguns métodos de recuperação são baseados na correção dos efeitos provocados pela DAM, enquanto outros se baseiam na diminuição da oxidação da pirita. O principal método de tratamento dos locais atingidos é a adição de materiais de reação alcalina para corrigir a acidez. Porém, este tratamento não impede o processo de oxidação da pirita, apenas corrige a acidez já existente e, ainda, as quantidades de base necessárias para a correção são muito grandes. Campos (2000), por exemplo, encontrou necessidades de calcário superiores a 100 toneladas de CaCO₃ por hectare (camada de 0-20cm) em áreas de mineração no município de Lauro Muller, SC.

Para diminuir a oxidação da pirita, estratégias como a adição de bactericidas para eliminar *Acidithiobacillus* ssp. ou o encapsulamento da pirita têm sido testadas. Alguns trabalhos têm mostrado que a aplicação de soluções contendo fósforo pode levar à diminuição da oxidação da pirita pela formação de um precipitado, o fosfato de ferro, que recobre o mineral, diminuindo sua reatividade. Além disso, há o consumo de Fe (III) no entorno das partículas de pirita, diminuindo a concentração do agente oxidante da reação (EVANGELOU, 2001).

2.4. RECUPERAÇÃO AMBIENTAL DE ÁREAS MINERADAS

A recuperação de áreas degradadas pode ser conceituada como um conjunto de ações, idealizadas e executadas por profissionais de diferentes áreas, que visam proporcionar o restabelecimento de condições de equilíbrio e sustentabilidade existentes anteriormente em um sistema natural (DIAS e GRIFFITH, 1998). A degradação do solo é a perda de condições desejáveis, relacionadas ao crescimento de plantas e ao ambiente, e propõe que a recuperação de solos seja definida como o melhoramento da qualidade de um solo degradado no sentido de adquirir novamente suas condições originais. O Manual de Recuperação de Áreas Degradadas pela Mineração define que a degradação de uma área ocorre quando a vegetação nativa e a fauna forem destruídas, removidas ou expulsas; a camada fértil do solo for perdida, removida ou enterrada; e a qualidade e regime de vazão do sistema hídrico forem alterados.

Sanches e Formoso (1990) citam que os impactos ambientais provocados pela mineração de carvão, principalmente a céu aberto, acarretam a contaminação do solo, água e ar, causando impactos temporários ou permanentes e a perda completa da vegetação da superfície do solo, destruindo a estrutura do solo e eliminando do habitat dos organismos do solo. Stahl et al. (2002), citam ainda que vários fatores de natureza física e química do rejeito carbonífero limitam o estabelecimento vegetal, restringindo a reabilitação das áreas de mineração, causando sérios efeitos nos atributos físicos, químicos e biológicos, e conseqüentemente resultando em reduções significativas da qualidade do solo.

Em conseqüência da desagregação da estrutura e da redução da capacidade de infiltração da água, ocorre um maior escoamento superficial e exposição de camadas ricas em pirita, o que acarreta uma série de prejuízos no desenvolvimento da vegetação, fontes pontuais de poluição e aparecimento de um rápido e intenso processo erosivo (PINTO e KÄMPF, 2002). A reversão deste quadro, segundo Pinto e Kämpf (2002), só será possível com a correção da acidez, controle da erosão das áreas recuperadas através de manejo e com o rápido estabelecimento da vegetação e a manutenção da cobertura do solo ao longo do tempo. Os objetivos da recuperação dos solos construídos prevêm basicamente o surgimento de sucessão vegetal, de modo que essa revegetação promova a inibição da ocorrência do processo erosivo nestas áreas, através da presença de indícios de reestruturação das propriedades físicas do solo, início de reciclagem de nutrientes, vegetação e organismos vivos (BUGIN, 2002).

Atualmente, as etapas de recuperação das áreas degradadas pela mineração são apresentadas pelas empresas mineradoras ao DNPM na forma de “planos de recuperação de áreas degradadas”. Estes planos sugerem: (1) remoção do solo vegetal no sentido perpendicular ao corte, para estocagem em local pré - determinado; (2) retirada do regolito

argiloso e camadas sobrejacentes ao carvão no sentido do espaço criado pelo corte para último recobrimento; (3) após retirada do carvão, preenchimento da cava com o “estéril” piritoso e o arenito; (4) recobrimento do “estéril” repostado com parte do regolito argiloso proveniente do corte adjacente; (5) reposição do solo vegetal previamente estocado sobre o corte já preenchido e recoberto; (6) conformação e drenagem do terreno; (7) plantio e/ou semeadura de espécies vegetais para fixação do solo (CAMPOS, 2000). Devido aos diferentes processos de lavras e de construção utilizados pelas mineradoras, aos altos custos operacionais e às dificuldades de fiscalização, observa-se na prática que a maioria das áreas construídas encontra-se em avançado estágio de degradação (MAÇANEIRO, 2001).

Em 1989, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), lança a resolução 001/86, regulamentada pela lei 6.038, que definiu os empreendimentos passíveis de Licenciamento Ambiental e instituiu a exigência de licenciamento de projetos, incluindo projetos em áreas de mineração, fazendo necessária a apresentação de EIA/RIMA (Estudo de Impacto Ambiental/Relatório de Impacto Ambiental). O exercício da atividade mineradora depende de três instrumentos específicos de controle do Poder Público no que se refere aos riscos potenciais de danos ao meio ambiente resultantes da extração: o Estudo Prévio de Impacto Ambiental (EIA), o Licenciamento Ambiental (LA) e o Plano de Recuperação de Áreas Degradadas (PRAD) (LOPES, 2000).

Entretanto, Campos et al. (2003), consideram que o tratamento legal dispensado pela legislação brasileira para esta finalidade é deficiente devendo ser aprimorado. Desta forma os planos de extração de carvão e reabilitação da área a ser minerada também devem constar no projeto de mineração, pois é obrigatória a reabilitação das áreas degradadas como é regulamentado pelo decreto número 97.632 de 10 de abril de 1989.

Embora ainda não existam na legislação diagnósticos mais precisos na reconstrução de áreas mineradas, pesquisas buscam diferentes alternativas e inovações para um melhor progresso destas áreas recuperadas. No momento da escolha das técnicas de lavra e de recomposição a serem adotadas, devem ser levados em consideração os aspectos locais e as características particulares de cada região (KOPEZINSKI, 2000), pois as operações de construção do solo devem ser cuidadosamente avaliadas para determinar a sua influência nas condições físicas dos solos construídos (MCSWEENEY e JANSEN, 1991). Segundo Nunes (2002), para que seja possível o sucesso na recuperação de áreas degradadas são necessários estudos que visem avaliar as várias formas de degradação causadas por alterações nos atributos dos solos construídos, bem como seu potencial de uso, para a obtenção de índices

que permitam estipular o impacto ambiental dessas áreas mineradas, contribuindo assim para diagnosticar os problemas existentes e propor a adequada recuperação destas áreas.

2.5. FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E RIZOBACTÉRIAS EM ÁREAS DEGRADADAS PELA MINERAÇÃO

Nas duas últimas décadas, maiores atenções foram voltadas para a recuperação de áreas degradadas e contaminadas, principalmente por força da opinião pública e movimentos ambientalistas (POTTER et al., 1998). No Brasil, a obrigatoriedade de recuperação de áreas degradadas por atividades de mineração é garantida pela Constituição Federal e por Leis Complementares (BRASIL, 1990).

Para recuperar uma área degradada é preciso dar importância para a qualidade do solo, que pode ser definida como a capacidade contínua do solo de aceitar, estocar e reciclar água, nutrientes e energia, bem como reter, dispersar e transformar materiais químicos e biológicos, funcionando como um tampão ou filtro ambiental. A qualidade de qualquer solo depende da sua natureza, que é função dos fatores de formação e da interferência antrópica relacionada ao uso e manejo (GREGORICH et al., 1994).

A qualidade do solo está relacionada intimamente à atividade microbiana, ou seja, a reações biológicas e bioquímicas catalisadas pelos microrganismos. Essas reações são responsáveis pela decomposição de resíduos de plantas, animais, urbanos e industriais, pela ciclagem biogeoquímica, incluindo a fixação de N_2 , pela formação de agregados do solo e pela taxa de decomposição de materiais orgânicos (VAN ELSAS, 1997). Devido a essas características, os microrganismos do solo são considerados como indicadores sensíveis para avaliar o impacto antropogênico sobre os processos biológicos do solo (DICK, 1994), tornando-se importantes ferramentas para recuperação de áreas degradadas pela mineração de carvão que afetam as condições edáficas como a disponibilidade de nutrientes, pH, textura, umidade, temperatura, aeração, agregação, matéria orgânica e a composição da microbiota (GREGORICH et al., 1994), influenciando de forma diversa o crescimento, a distribuição e a sobrevivência dos microrganismos do solo e conseqüentemente o estabelecimento da comunidade vegetal.

Embora negligenciados na maioria dos estudos, os componentes microbiológicos dos solos são vitais à sustentabilidade de ecossistemas naturais e podem determinar o tipo de

vegetação que irá ocupar uma determinada área, em função do tipo de microrganismo que está associado às espécies vegetais (CHANWAY et al., 1991). Muitos organismos do solo já foram citados na literatura como agentes recuperadores de solos em áreas de mineração de carvão, principalmente a fauna do solo (DUNGER, 1989; CORREA, 2010), bactérias do gênero *Rizhobium*, *Bradyrizhobium* (MATSUDA et al., 2002), *Azospirillum* (MOREIRA et al., 2008), fungos micorrízicos arbusculares (CORBETT et al., 1996; TAHERI et al., 2010, CHEN et al., 2003-2007, MENDONÇA et al., 2002) entre outros.

Dentre os inúmeros componentes microbiológicos do solo, um dos de maior destaque são os fungos micorrízicos arbusculares. De ocorrência universal, associam-se às mais variadas categorias taxonômicas de plantas (SILVEIRA, 1992). Os FMAs - Filo Glomeromycota, classe Glomeromycetes (glomeromicetos)- vem sendo estudados amplamente como recurso biotecnológico a ser utilizado para recuperação de áreas degradadas, pois são membros importantes do sistema solo/planta, uma vez que a própria diversidade destes fungos esta intimamente ligada à diversidade e à produtividade das comunidades vegetais. Até o momento são conhecidas cerca de 223 espécies de FMAs (<http://WWW.Amf-phylogeny.com>).

Os FMAs são simbioses obrigatórios, pois completam seu ciclo de vida associados com a raiz de uma planta viva. Nesta simbiose a planta supre o fungo com energia para seu crescimento e reprodução via compostos de carbono provenientes da fotossíntese, e o fungo fornece a planta e ao solo vários benefícios: plantas colonizadas com FMA têm sua zona de depleção de nutrientes ampliada (LI et al., 1991) e podem ter aumentos na absorção de nutrientes inorgânicos, como fósforo (SANDERS e TINKER, 1973:), nitrogênio (AMES et al., 1983), ferro (CARIS et al., 1998), zinco, cobre, cádmio (LI et al., 1991: BTIRKERT e ROBSON, 1994), enxofre, boro e cloro (COOPER e TINKER, 1978). O fungo também auxilia na resistência da planta ao ataque de patógenos do sistema radicular e na capacidade de absorção de água (SMITH e READ, 1997). Os FMAs acumulam carbono (RILLING et al., 2001) e contribuem para o aumento da biomassa microbiana no solo, favorecendo o processo de seqüestro de carbono na atmosfera. Ainda no solo estes fungos contribuem com a formação e estabilidade de agregados veiculados pela ação física do micélio fúngico e pela ação da glomalina, que é uma glicoproteína produzida pelo fungo (RILLIG e MUMMEY, 2006).

Em comunidades naturais, plantas hospedeiras são colonizadas logo após a germinação e, freqüentemente, são colonizadas por mais de uma espécie de FMA. Existem evidências da presença de conexões produzidas por hifas fisiologicamente funcionais, em combinações inter e intraespecíficas entre plantas. Por meio destas conexões ocorrem trocas

de fotoassimilados entre plantas hospedeiras (geralmente pioneiras) e as não hospedeiras (geralmente não pioneiras), diminuindo as diferenças na competição e permitindo sua sobrevivência; aumentado a coexistência de diferentes espécies e contribuindo para o aumento na diversidade florística (SANDERS, 1996), fato fundamental para a recuperação e sustentabilidade de uma área degradada.

No ano de 2007 um levantamento bibliográfico feito por Stürmer e Siqueira, foram identificadas 99 espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em ecossistemas brasileiros, indicando uma importante fonte de diversidades destes organismos. Do total destas espécies, 38 foram encontradas e 16 espécies identificadas em áreas degradadas: com contaminação de metais pesados (KLAUBERG-FILHO et al., 2005), mineração de bauxita (MELLONI et al., 2003; CAPRONI et al., 2003) e mineração de cobre (SILVA et al., 2005).

Na literatura há muitos estudos que contemplam os benefícios dos FMAs na recuperação de áreas degradadas pela ação antrópica, seja como uma alternativa pra incrementar a biomassa e permitir a sobrevivência em ambientes com alto nível de stress, ou estudos exploratórios, que observam o comportamento das populações nativas, bem como a ocorrência e diversidade em ambientes degradados.

Plantas com fungos micorrízicos produzem maior quantidade de massa vegetal e absorvem e acumulam mais metais que plantas sem esses fungos (CHEN et al., 2003). Há evidências da contribuição destes fungos para a tolerância de espécies tropicais ao excesso de metais pesados, como observado por Siqueira et al. (1999), para milho e espécies arbóreas. Nogueira et al. (2004) verificaram teores de Mn em grãos de soja com inoculação de FMA, porém maiores quantidades acumuladas deste metal nas plantas. Resultados semelhantes foram relatados sobre diversas gramíneas, em solo contaminado por metais pesados (KLAUBERG-FILHO et al., 2005). Ransson, et al. (2009), observaram em espécies florestais que a toxicidade do Al é um fator crítico para a nutrição das plantas em solos florestais por meio do impacto sobre o fungo simbiote e bactérias associativas. Porém, em contra partida os FMAs e bactérias do gênero *Azospirillum* podem contribuir para aliviar algumas situações de estresse pelas quais as plantas possam ser submetidas.

Os FMAs têm ocorrência abundante em solos contaminados (GAUR e ADHOLEYA, 2004; SILVA et al., 2005; STÜRMER e SIQUEIRA, 2006). Espécies de FMAs foram encontradas em áreas com resíduos de petróleo (NAKATANI, 2007), mineração de Zn (KLAUBERG-FILHO, et al., 2002), mineração de Cu (SILVA, et al., 2005) entre outros. Podendo assim perceber a alta resistência destas espécies a stress hídrico, acidificação e desagregação do solo bem como ausência ou pouca cobertura vegetal.

Carneiro et al. (2001) mostraram que a co-semeadura de gramíneas e crucíferas, em solo contaminado com metais pesados e infestado com propágulos de FMA, aumentou a extração de metais biodisponíveis e facilitou o estabelecimento posterior da gramínea. Plantas associadas com fungos micorrízicos podem, no entanto, reter estes metais nas raízes e reduzir a translocação para a parte aérea (CHRISTIE et al., 2004). Isto envolve vários mecanismos, como efeitos diferenciados no crescimento da planta hospedeira e a produção pelos FMAs de glicoproteínas, denominadas glomalinas, que apresentam alta capacidade de reter metais.

A remoção da vegetação e a perda do horizonte superficial orgânico do solo durante os processos de mineração promovem a perda parcial ou total dos propágulos de fungos micorrízicos arbusculares, bem como a redução na sua capacidade infectiva, podendo, segundo Souza e Silva (1996), afetar a sucessão das plantas pela limitação de espécies vegetais capazes de crescer sem estabelecer simbiose com esses fungos. Portanto, as atividades de reflorestamento nessas áreas devem envolver o plantio de mudas de espécies florestais micotróficas obrigatórias que receberam inóculos de bactérias diazotróficas e de FMAs, para garantir a sua sobrevivência (PFLEGER et al., 1994). Esse método parece ser mais efetivo se as mudas receberem inóculos adaptados às condições edafoclimáticas nas quais serão introduzidas, por ajudar a sobrevivência e crescimento das plantas nas áreas em recuperação (PFLEGER et al., 1994).

Em áreas de mineração de bauxita no Brasil, estudos de ocorrência e recuperação destas áreas foram encontradas 7 espécies de FMAs onde sua ocorrência foi favorecida com o plantio de gramíneas. Nos testes de eficiência micorrízica dos isolados de áreas de mineração de bauxita foi comprovado alta eficiência, podendo estes ser utilizados tanto em gramíneas como em leguminosas (MELLONI et al., 2003). Caproni et al. (2003), também observaram ocorrência e diversidade de FMAs em áreas de mineração de bauxita em Poços de Caldas-Brasil, onde foram encontradas 8 espécies de FMAs que coincidiram com as encontradas por Melloni et al. (2003). Na Austrália Garner e Malajzuk (2003), observaram a ocorrência de 13 espécies de FMAs e Jasper (2007), 5 espécies de FMAs, 2 de ectomicorrizas e 3 espécies de bactérias fixadoras biológicas de nitrogênio. Em todos os estudos em áreas de mineração de bauxita, as populações micorrízicas foram afetadas e pode ser considerada uma alternativa para produção de inóculo para recuperação destas áreas.

A mineração de magnesita na Índia, onde foram encontradas 14 espécies de FMAs, apesar da influencia negativa desta atividade na comunidade microbiana (RAMAN et al., 2003). Experimentos conduzidos a campo na Polônia em áreas de mineração de zinco confirmaram que a inoculação de *Glomus claroideum* assegurou o estabelecimento de

gramíneas nativas nestas áreas. No Brasil 11 espécies de FMAs tiveram ocorrência em áreas de mineração de zinco em Três Marias-MG, o estudo concluiu que a densidade, riqueza e aumento de dominância teve relação inversa com as concentrações de metais no solo (KLAUBERG-FILHO et al., 2005). A espécie *G.mosseae* teve ocorrência em solos contaminados com Cd na França (RENDON et al., 2008). Áreas desertificadas na Espanha tiveram a ocorrência de 3 espécies de FMAs (AZCCÓN-AGUILLAR et al., 2003). Os estudos com solos erodidos na China (WU et al., 2002) e solos salinos na Alemanha (WILDE et al., 2009) confirmam a ampla ocorrência de FMAs principalmente do gênero *Glomus*. No Quadro 1 pode-se observar estudos realizados com FMAs em áreas degradadas, focando a ocorrência, diversidade e efeito da inoculação destes microrganismo.

Estudos que envolvam a ocorrência, diversidade e atividade de FMAs especificadamente em áreas de mineração de carvão foram realizados principalmente no EUA, China e Índia (Quadro 2).

QUADRO 1. Estudos de ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de FMAs em áreas degradadas

ÁREA DE ESTUDO	PAÍS	ESPÉCIES DE FMAs	HOSPEDEIRO	OBSERVAÇÃO	AUTOR
Áreas desertificadas	Espanha	<i>Scutellospora sp.</i> , <i>Glomus coronatum</i> , <i>Glomus constrictum</i>	Plantas rasteiras	Ocorrência	Azcón-Aguillar et al., 2002
Área de empreitimo-Usina Hidrelétrica	Brasil-MS	não descritas	<i>Stryphnodendron polyphyllum</i>	Após um ano de recuperação, o solo ainda apresentou caráter ácido, porém plantas que foram submetidas a calcário e adubação orgânica apresentaram maior biomassa, CM (88,75%) e número de esporos (330 100g/solo)	Calgaro et al., 2008
Mineração de Bauxita.	Brasil-PA	<i>Glomus</i> (27*), <i>Acauolspora</i> (11), <i>Entrphospora</i> (7), <i>Scutellospora</i> (6), <i>Gigaspora</i> (4), <i>Archeospora</i> (1)	100 arbóreas nativas e 4 exóticas	A diversidade de FMAs foi mais alta e a dominância de espécies mais baixa em áreas revegetadas (2 anos). O plantio de mudas micorrizadas aumenta a produção de esporos em subsolo resultante da mineração	Caproni et al., 2003
Solos ácidos (casa de vegetação)	Estados Unidos	<i>G.clarum</i> , <i>G.diaphanum</i> , <i>G.etunicantum</i> , <i>G.intraradices</i> , <i>Gigaspora albida</i> , <i>G. margarita</i> , <i>G. rósea</i> , <i>A. morrowiae</i>	<i>Panicum virgatum</i>	<i>G. clarum</i> e <i>G.diaphanum</i> promoveram maior massa seca nas plantas. <i>G.rosea</i> foi a espécie menos eficiente. A colonização não teve relação com o incremento de biomassa	Clark et al., 1999
Mineração de Bauxita	Austrália	<i>A.laavis</i> , <i>A.trappei</i> , <i>G. calospora</i> , <i>G.caledonium</i> , <i>G.claroideum</i> , <i>G.etunicantum</i> , <i>A.foveata</i> , <i>A.laavis</i> , <i>E.colombiana</i> , <i>S. calospora</i> , <i>E.colombiana</i> , <i>P. occultum</i> , <i>A.scrobiculata</i>	<i>Eucalyptus marginata</i>	A diversidade e a abundância micorrízica aumentou com a idade de reabilitação das áreas. Os resultados de número de esporos e CM em 7 anos de recuperação foram próximos a dados de floresta nativa.	Gardner e Malajczuk 1988
Solos ácidos	Suécia	FMAs	<i>Elymus caninus</i> , <i>Poa nemoralis</i> , <i>Deschampsia cespitosa</i>	O nível de acidez teve correlação inversa com a atividade micorrízica	Göransson et at, 2008

Continua...

QUADRO 1. Estudos de ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de FMAs em áreas

Mineração de Manganês		<i>Bactérias do gênero Azotobacter e Rhizobium, além de fungos e actinomicetos</i>		Ocorrência	
Área agrícola	Estados Unidos	Nematóides e bactérias	<i>Gramíneas</i>	A introdução de microrganismos pode auxiliar, intermediando as fases sucessionais vegetais.	Kardol et al., 2009
Casa de vegetação	Estados Unidos	FMAs	<i>Andropogon virginicus</i>	<i>G. clarum</i> apresentou alta tolerância (24-92%) a toxicidade de Al. <i>A. morrowiae</i> (1,6-12,1%), apresentando sensibilidade e <i>S.heterogama</i> teve valores intermediários (4,0%)	Kelly et al., 2005
Mineração de Zinco	Brasil-Minas Gerais	<i>A.morrowiae, A.mellea, A.scrobiculata, E.colombiana, G.clarum. G.intraradices, G.margarita, P. .occultum, S.heterogama, S. fulgida, S.pellucida. A</i>	Gramíneas	Ocorrência e Recuperação	Klauberger-Filho et al., 2005
Área degradada de cerrado	Brasil-DF	<i>G.margarita, A.scrobiculata. G.sp.</i>	<i>Aristida setifolia</i>	FMAs aumentaram a biomassa vegetal e maximizou o efeito do calcário, trufa e torta de mamona.	Melloni et al., 2004
Mineração de Bauxita	Brasil	<i>Burkholderia brasiliensis; Herbaspirillum seropidicae, Azospirillum brasiliense. A. amazonense, A.lipoferum, A.irakense.</i>		Ocorrência	Melloni et al., 2003
Mineração Bauxita	Brasil	<i>Gigaspora sp.; G. margarita; Paraglomus occultum, Glomus sp.; Entrophospora colombiana; Acaulospora scrobiculata.</i>		A ocorrência foi favorecida pela presença de gramíneas. Teste de eficiência mostraram que estes isolados podem ser utilizados em programas de recuperação de solos minerados em diferentes tipos de vegetação	Moreira et al., 2007

Continua...

QUADRO 1. Estudos de ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de FMAs em áreas

Áreas de Floresta de Araucária	Brasil-SP	<i>Acaulospora</i> (11), <i>Archeospora</i> (1),	<i>Araucaria angustifolia</i>	Houve maior ocorrência de FMAs em floresta nativa (393-386 esporos 100g/solo) que na floresta plantada (269-158 esporos 100g/solo)	Moreira et al., 2008
Mineração de Zinco		<i>Isolados de bactérias associativas diazotóficas do gênero Azospirillum resistentes a Zn e Cd.</i>		Teste de isolados	Orlowska et al., 2005
Mineração de Zn	Polônia	<i>G.claroideum</i> , <i>G.intraradices</i> , <i>G.geosporum</i> , <i>G. etunicantum</i>	<i>Festuca rubra</i> , <i>Plantago lanceolata</i>	<i>G.claroideum</i> foi a espécie que mais contribui para o estabelecimento vegetal na área perturbada	Paula et al., 2006
Área de “landfarming” resíduo petroquímico	Brasil-BA	<i>G.clarum</i> , <i>P.occultum</i>	<i>Brachiaria decumbens</i>	FMAs tiveram ampla ocorrência em plantas espontâneas, e estas foram tolerantes a componentes tóxicos aplicados continuamente no solo.	Posada et al., 2007
Floresta Amazonica Colombiana-erosão	Colombia	FMAs	<i>Brachiaria decumbens</i>	A perda de atributos químico e físicos do solo afetou a Cm e o comprimento de hifas.	Punimiya et al., 2010
Casa de vegetação	Estados Unidos	<i>G.mossea</i>	<i>Chrysopogom zizanioides</i> (L).	Plantas inoculadas apresentaram teores mais altos de Pb na área radicular.	Raman et al., 1993
Solo contaminado Zn, Cd e Pb	Eslovênia	<i>G.fasciculatum</i> , <i>G.mossea</i> , <i>G.etunicatum</i>	<i>Calamagrotis varia</i> , <i>Sesleria caerulea</i>	A capacidade de germinação foi afetada pela contaminação. Apesar da baixa colonização micorrízica, houve alta esporulação.	Riska e Turnau, 2007
Mineração de Zinco	Polônia	FMAs	16 gêneros de gramíneas	A introdução de inóculo micorrízico contribuiu para o desenvolvimento das plantas e no estágio sucessional inicial.	Rydlová e Vosátka, 2001
Mineração de Cobre	República Tcheca	<i>G.fasciculatum</i>	<i>Elytrigia repens</i> , <i>Calamagrotis epigejos</i> , <i>Arrhenatherum elatus</i>	A colonização micorrízica, teve relação com o estágio micotrófico da planta e foi afetado com o nível de contaminação da área.	Ryszka e Turnau, 2007
Mineração de Cobre	Brasil-BA	<i>Glomus</i> , <i>Acaulospora</i> , <i>Archeospora</i> , <i>Entrophospora</i> ,	<i>Paspalum noturum</i>	Quanto maior a diversidade vegetal da área reabilitada , maior a diversidade	Soares e Siqueira, 2008

Continua...

QUADRO 1. Estudos de ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de FMAs em áreas

		<i>Gigaspora, Paraglomus, Scutellospora</i>		micorrízica.	
Casa de vegetação	Brasil-MG	<i>A.morrowiae, G.albida e G.clarum</i>	<i>Brachiaria decumbens</i>	FMAs e fertilizantes aumentaram a capacidade das gramíneas crescerem em solos multicontaminados. Bioacumulando principalmente Cd no sistema radicular.	Sudová et al., 2008
Casa de vegetação	República Tcheca	<i>G. intraradices</i>	<i>Agrotis capilaris</i>	A inoculação promoveu acumulação de metais no sistema radicular (Pb, Zn, Cu e Cd)	Trindade et al., 2000
Mineração de Ferro	Brasil-MG	FMAs	<i>Vanilloamopsis erythropappa</i>	A mineração afetou negativamente os valores de carbono orgânico, nitrogênio e CM, chegando a <1 esporo por kg de solo.	Vogel-Mikus et al., 2005
Mineração de Ferro	Eslovênia	FMAs	<i>Thlaspi praecox</i>	Metais foram acumulados na parte radicular, suportando a hiperacumulação de Cd (0,6%), Zn (1,5%) e Pb (0,4%). A colonização micorrízica (CM) chegou a 0% nos locais contaminados)	Weiersbye et al 1999
Mina de ouro e urânio	África	FMAs	<i>Cynodon dactylon</i>	Plantas com FMAs acumularam maiores teores de Cr, Fe, Ni, Cu, Br, Y, Th e U na parte radicular.	Wilde et al., 2009

QUADRO 2. Ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de FMAs em áreas de mineração de carvão.

PAÍS	ESPÉCIES DE FMAs	HOSPEDEIRO	OBSERVAÇÃO	AUTOR
China	FMAs	<i>Imperata cylindrica</i> , <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Paspalum destichum</i> , <i>Calopsis drummondii</i>	Em altos níveis de Pb, Zn, Cd e Cu a CM chegou a 0%	Chen et al., 2005
China	<i>G.mossea</i>	Gramíneas	Inóculo de <i>G.mosseae</i> contribuiu para o desenvolvimento de gramíneas	Chen et al., 2007
Estados Unidos	<i>Gigaspora sp</i> , <i>Scutellospora sp</i> , <i>Glomus sp</i> , <i>G. geosporum</i> , <i>G. fasciculatum</i>	Gramíneas	Foram identificadas 5 espécies de FMAs	Corbett, et al., 1996
Estados Unidos	Ectomicorrizas	<i>Quercus rubra</i>	A micorrização aliada a fertilizantes aumentou a sobrevivência da mudas.	Davis et al., 2004
Espanha	FMAs	<i>Mendicaga sativa</i>	O potencial de inóculo reduziu com a mineração. O número de esporos e a CM não se correlacionaram	Diaz e Horumbia, 1993
Brasil-RS	Bactérias, fungos e actinomicetos	Trevo branco, aveia preta e milho	A acidez reduziu a microbiota do solo	Gaivizzo et al., 2002

Continua...

QUADRO 2. Ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de FMAs em áreas de

Índia	<i>Rhizobium, Azotobacter</i> e FMAs	Gramíneas nativas	Inoculação com biofertilizantes de grupos microbianos, os quais estavam praticamente ausentes e material alcalino, ajudou a reduzir a toxidade de metais como cromo, zinco, cobre, ferro, manganês, níquel e cádmio 41%, 43%, 37%, 37%, 34%, 39%, 37% e 40%, respectivamente.	Juwarkar et al., 2007
Índia	<i>A. scrobiculata, E. colombiana, G. aggregatum, G. ambisporum, S. calospora.</i>	Arbóreas	A comunidade vegetal estimula a atividade micorrízica (20-95% de CM)	Mehotra et al 1998
Brasil-SC	FMAs, Carbono da biomassa microbiana, Respiração basal	Gramíneas	A calagem, a matéria orgânica e a comunidade vegetal melhoraram as características biológicas do solo.	Mendonça, 2002
África do Sul	<i>G. clarum, P. occultum, G. gigantea, G. mossea</i> e Actinomicetos	<i>Cynodon dactylon</i>	FMAs é uma alternativa para reabilitação de áreas, promovendo aumento de biomassa, índice de sobrevivência, colonização micorrízica e produção de ácidos húmicos.	Mukasa-Muger et al 2010

Continua...

Quadro 2. Ocorrência, diversidade e efeito da inoculação de FMAs em áreas de mineração de carvão.

Estados Unidos

*G.mossea, P.occultum,
Entrophospora sp. A. sp.**Andropogon virginicus, Plantago
lanciolata*

As plantas não sofreram toxicidade com o Al, mas tiveram sua biomassa reduzida, mesmo assim os FMAs auxiliaram no incremento de biomassa.

TaHERI et al., 2010

Mehrotra et al. (2008), confirmou que plantas pioneiras estimulam o desenvolvimento das populações de FMAs, ainda neste estudo foi verificada a ocorrência de 6 espécies de FMAs. Juwarkar et al. (2007), em experimento a campo na Índia, testou a adição de biofertilizantes de grupos microbianos como *Rhizobium* e *Azotobacter* e esporos de FMAs juntamente com material alcalino e detectou a redução da toxicidade de metais na área, considerando que as comunidades microbianas inseridas estavam praticamente ausentes devido a degradação edáfica causada pela atividade mineradora.

Condições de estresse edafoclimático causado pela mineração de carvão reforçam a simbiose entre planta hospedeira e fungo micorrízico (TAHERI et al., 2010). Na China Chen et al. (2005-2007), observaram que gramíneas nativas possuíam alta taxa de colonização micorrízica (>50%) em área mineradas em recuperação. O que contribuiu para a fitoestabilização de metais e que a espécie de FMA *G.mosseae* contribuiu eficientemente para o estabelecimento de gramíneas nestas áreas impactadas.

Corbett et al. (2006) estudou a ocorrência de FMAs em áreas de mineração nos Estados Unidos e verificou a presença de 5 espécies de FMAs, pertencentes aos gêneros *Glomus*, *Gigaspora* e *Scutellospora*.

No Brasil os estudos sobre a diversidade de FMAs em áreas de mineração de carvão são escassos, os principais estudos foram realizados em área de mineração de bauxita e zinco (Tabela 1). No sul do Brasil Gaivizzo et al. (2002), no Rio Grande do Sul em experimento a campo comprovou que o potencial acidificante do rejeito carbonífero reduziu drasticamente a população microbiana no solo (bactérias, actinomicetos e fungos). Na bacia carbonífera catarinense, principalmente no distrito de Lauro Müller os estudos são voltados para a química, física do solo (CAMPOS et al., 2003; LUNARDI et al., 2008; MAÇANEIRO, 2001), fauna do solo (CORREIA, 2010) e relato de um estudo sobre o impacto da mineração de carvão na comunidade microbiana do solo: Mendonça (2002), concluiu que características microbiológicas, como comprimento de micélio micorrízico e carbono da biomassa microbiana podem ser usados como indicadores de alterações em solos minerados.

Outra ferramenta biotecnológica que pode ser utilizada para recuperação de áreas mineradas são as bactérias heterotróficas, microaerófilas e gram negativas do gênero *Azospirillum* que envolve atualmente as espécies: *A. brasilense* e *A. lipoferum*, *A. amazonense* (MAGALHÃES et al., 1983), *A. halopraeferens* (REINHOLD et al., 1987), *A. irakense* (KHAMMAS et al., 1989), *A. largimobile* (DEKHIL et al., 1997), *A. dobereineriae* (ECKERT et al., 2001), *A. melinis* (PENG et al., 2006), *A. oryzae* (XIE e YOKOTA, 2005) e *A. canadense* (MEHNAZ et al., 2007).

Diferente do que ocorre na interação rizóbio-leguminosa, os microrganismos desse gênero, classificados como associativos, colonizam as plantas sem que haja a formação de estruturas diferenciadas e sem que se estabeleça qualquer relação de simbiose (BERGAMARSCI, 2006). Maior parte das espécies do gênero é encontrada colonizando a zona de alongação das raízes e os pêlos radiculares, no entanto, algumas estirpes podem ser encontradas no interior das plantas, por isso são consideradas endofíticas facultativas (BALDANI et al., 1997; DÖBEREINER et al., 1995). Além da possibilidade de sobrevivência no ambiente rizosférico ou no interior da planta, o gênero *Azospirillum* apresenta boa sobrevivência no solo. Sob condições de estresse, essas bactérias têm capacidade de agregação devido à produção de flocos e também de cistos ricos em poli- α -hidroxibutirato (PHB) que, na ausência de alimento, pode servir como fonte de carbono e energia para essas espécies (BASHAN e HOLGUIN, 1997; BURDMAN et al., 1998).

Azospirillum lipoferum, *A. brasilense* e *A. amazonense* apresentam uma ampla distribuição ecológica e são as principais espécies com ocorrência nas regiões de clima tropical, onde maior parte dos isolados são obtidos da rizosfera e da parte aérea de diversas gramíneas (BALDANI et al., 1997).

As bactérias promotoras de crescimento vegetal (BPCV) exercem efeitos benéficos no desenvolvimento das plantas e possibilitam a redução da aplicação de fertilizantes químicos, diminuindo o custo de produção e os problemas de contaminação ambiental decorrentes das perdas de nutrientes (FREITAS e VILDOSO, 2004; NELSON, 2004). Segundo Oliveira et al. (2003), as BPCV podem afetar o crescimento das plantas através de mecanismos diretos e indiretos. Os mecanismos diretos de promoção de crescimento incluem a fixação biológica de nitrogênio (CARDOSO et al., 1992; REIS e TEIXEIRA, 2005; TEIXEIRA, 1997), síntese de sideróforos, produção de fitohormônios (PERRIG et al., 2007; RODRIGUES, 2004), solubilização de fosfatos e aceleração do processo de mineralização dos nutrientes. Indiretamente, atuam os mecanismos de indução de resistência sistêmica das plantas, antagonismo à patógenos, aumento da resistência das plantas a situações de estresse e produção de antibióticos.

As rizobactérias promotoras de crescimento (RBPC) têm sido amplamente utilizadas na agricultura e agora são também exploradas para aplicação ambiental (BASHAN, 1998; GRANDLIC et al., 2009). As RBPC são introduzidas nas sementes antes do plantio para aumentar um ou mais aspectos do crescimento da planta através de inúmeros mecanismos que foram estudados, desde a fixação biológica do nitrogênio até a produção de hormônios de crescimento como auxinas e citocininas (GRANDLIC et al., 2008). Nada se conhece,

entretanto, sobre a ocorrência destas bactérias em solos acidificados após contaminação por rejeitos piritosos nem sobre a contribuição que estas bactérias podem dar a revegetação destes solos.

Estudos de ocorrência de bactérias realizados em áreas de mineração de bauxita no Brasil foram encontradas espécies *Burkholderia brasiliensis*; *Herbaspirillum seropidicae*, *Azospirillum brasiliense*. *A. amazonense*, *A. lipoferum*, *A. irakense* (MELLONI et al., 2004). Em área de mineração de Zinco em Três Marias-MG foram isoladas bactérias associativas diazotóficas do gênero *Azospirillum* resistentes a Zn e Cd que podem ser utilizadas na recuperação destas áreas (MOREIRA et al., 2008).

No processo de reabilitação de áreas mineradas, bactérias do gênero *Azospirillum*, podem ter rápida proliferação no solo, pela sua fácil disseminação por meio de sementes das espécies plantadas nas áreas e pela sua afinidade pela rizosfera de gramíneas (MELLONI et al., 2004). Estes resultados podem indicar que estes organismos a exemplo do que ocorre com as simbioses de rizóbios e leguminosas, são importantes, nos estádios iniciais da sucessão da vegetação, os quais apresentam deficiência de N (MOREIRA, 1994). Melloni et al., (2004), em mineração de bauxita, após 6 meses de recuperação, registrou densidades totais de $3,1 \times 10^2$ bactérias por grama de solo. Estes valores podem ser considerados baixos, quando comparadas com áreas agrícolas (10^6 e 10^7 bactérias por grama de solo). Uma das possíveis explicações para estas baixas densidades foi que estas bactérias apresentavam baixa ocorrência no ambiente original.

Magalhães e Döbereiner (1084) relatou a baixa densidade de bactérias do gênero *Azospirillum*, sendo muitas vezes até nula em solos desprovidos de gramíneas e com baixa fertilidade.

Os estudos para recuperação de áreas mineração de carvão com bactérias do gênero *Azospirillum* em Santa Catarina são escassos, e tendo em vista a grande participação ecológica do grupo, estudos sobre ocorrência e eficiência tornam-se importantes para a região.

O conhecimento sobre a diversidade das populações de microrganismo do solo, seu papel e interações com o meio abiótico são requisitos básicos para o estabelecimento de manejo que permita o aumento no crescimento da planta, a sobrevivência e persistência de espécies importantes em um determinado ambiente. É imprescindível considerar a importância que a ecologia assume quando o interesse está no manejo agrícola e ambiental dos efeitos benéficos da simbiose. Nos programas de recuperação de áreas mineradas, a utilização de inoculantes microbianos só poderá ser utilizada após o conhecimento da

diversidade e do potencial de inóculo das comunidades micorrízicas nestas áreas (SIQUEIRA, 1994).

2.6. GRAMÍNEAS EM ÁREAS DE RECUPERAÇÃO DE MINERAÇÃO DE CARVÃO

Apesar de importante recurso energético, a exploração mineral é responsável pela produção e pelo acúmulo desordenado de grandes volumes de rejeitos. As áreas utilizadas como depósito de rejeitos carboníferos são recuperadas através do nivelamento das pilhas (recomposição topográfica) e a cobertura da superfície com uma camada de solo (GAIVIZZO et al., 2002). Vários fatores de natureza física e química do rejeito carbonífero limitam o estabelecimento vegetal, restringindo a reabilitação das áreas de mineração. A acidificação das pilhas de rejeitos devido à oxidação da pirita promove a solubilização de íons em níveis tóxicos para as plantas, inibe o crescimento de raízes e reduz o número de microrganismos fixadores de nitrogênio (RYDLOVÁ et al., 1992).

A revegetação é a etapa do processo de recuperação da área em que são adotadas as medidas para a implantação de uma cobertura vegetal, visando não somente a recuperação paisagística, mas também a recuperação das propriedades do solo. Um adequado desenvolvimento da vegetação pode auxiliar na correção desses fatores, ou seja, deve-se escolher espécies que tenham capacidade para crescer rapidamente, proteger e enriquecer o solo, abrigar e alimentar a fauna, recompor a paisagem e restabelecer o regime hídrico (KOPEZINSKI, 2000).

A manutenção do solo coberto traz também outros benefícios, tais como; proteção contra a radiação solar, mantendo as temperaturas mais baixas, reduzindo, desta forma, a perda de água por evaporação, e mantendo conseqüentemente os teores de água elevados por períodos mais longos; maior controle de plantas daninhas; maior ciclagem de nutrientes além de beneficiar a atividade biológica (GASSEN e GASSEN, 1996). Uma das alternativas utilizadas para recuperação de áreas mineradas é a fitorremediação que consiste no uso de plantas, microorganismos associados e respectivas enzimas, assim como a aplicação de técnicas agronômicas para degradar, reter, imobilizar ou reduzir a níveis não-tóxicos os contaminantes ambientais através de processos que visam recuperar a matriz do solo ou da água subterrânea e estabilizar o contaminante (CUNNINGHAM et al., 1996) É uma tecnologia que vem despertando cada vez maior atenção. As vantagens da fitorremediação incluem seu custo relativamente baixo, benefícios estéticos e natureza não-invasiva. A

fitorremediação é influenciada pela estrutura do solo, textura e teor de matéria orgânica, disponibilidade de água e de oxigênio, temperatura, concentração de nutrientes, radiação solar e pelos processos de degradação (FRICK et al., 1999).

A fitorremediação oferece vantagens, tais como: grandes áreas podem ser tratadas de diversas maneiras, a baixo custo, com possibilidades de remediar águas contaminadas, o solo e o subsolo. Entretanto o tempo para se obter resultados pode ser longo. A concentração do poluente e a presença de toxinas devem estar dentro dos limites de tolerância da plantas usadas para não comprometer o tratamento. Riscos como a possibilidade dos vegetais entrarem na cadeia alimentar, devem ser considerados quando empregar esta tecnologia (CUNNINGHAM et al., 1996).

As Braquiárias, conforme Cook et al. (2008), são gramíneas de crescimento rápido em condições de temperatura elevada, adaptada a solos de textura média a argilosa, média tolerância a seca, não tolera fogo e encharcamento, e é adaptada a condições de menor fertilidade, embora prefira solos com pH entre 5 e 7,5, além de contribuir para a melhoria do perfil do solo, no qual os implementos agrícolas convencionais não trabalham. Portanto, é fundamental a seleção de coberturas vegetais, com a finalidade de proteção superficial do solo, formação de "palhada", bem como reciclagem de nutrientes, com impacto direto nos atributos químicos do solo e na resposta das culturas subseqüentes.

As gramíneas perenes, por apresentarem maior densidade de raízes e melhor distribuição do sistema radicular no solo, favorecem as ligações dos pontos de contato entre partículas minerais e agregados, contribuindo para sua formação e estabilidade; e podem ser usadas como plantas recuperadoras da estrutura do solo em áreas degradadas (SILVA e MIELNICZUK, 1997).

Vários estudos com gramíneas, associadas com microrganismos do solo, mostram que esta interação pode ser benéfica para os processos de recuperação ambiental, pois favorece o estabelecimento da comunidade vegetal, contribuindo para a manutenção ecológica do ecossistema (BUGIN, 2002).

Alfaro-villatoro (2004) destaca o aumento da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares no sistema agroflorestal utilizando a cobertura de gramíneas e leguminosas. Estudos realizados no sul da Polônia com rejeito de mineração utilizando gramíneas e FMAs em experimento de campo mostrou que a introdução de fungos micorrízicos favoreceu o desenvolvimento de gramíneas durante estágios iniciais. Cuenca et al. (1998), em solos degradados da Venezuela, também verificaram que a revegetação com braquiária

proporcionou aumento da densidade de esporos de FMAs, de 18 a 471 vezes, com relação a solos degradados, não revegetados.

Para Melloni et al. (2003), em solos reabilitados em áreas de mineração de bauxita no Brasil, observou que a mineração afetou negativamente os fungos MA, sendo a recuperação destes mais relacionada com o tipo de vegetação do que com o tempo de reabilitação da área e que a ocorrência desses fungos foi favorecida pela presença de gramíneas. A revegetação com gramíneas contribuiu para aumentar a diversidade de bactérias diazotróficas em solos de áreas de mineração de bauxita, especialmente quando ocorreu a introdução de leguminosas (MELLONI et al., 2006)

Chen, et al. (2006), em casa de vegetação com resíduo de mineração de Cu, na China, confirmou que FMAs do gênero *Glomus* contribuem para estabelecimento de gramíneas e leguminosas.

Lunardi, et al., (2008), concluiu que a adubação com cama de aviário e a semeadura de *Brachiaria brizantha* no solo corrigido melhoram as propriedades físicas dos solos reconstruídos em Lauro Müller-SC, bem como que a correção de acidez do solo reconstruído após a exploração de carvão deve ser acompanhada da introdução de espécies vegetais que cobrem o solo e pela adição de matéria orgânica para favorecer os mecanismos de floculação da argila e da estabilização dos agregados.

Portanto nos programas de recuperação, deve-se buscar um procedimento de revegetação que seja sustentável, ou seja, implementar ações que garantam o estabelecimento da vegetação inicial, com espécies tolerantes como gramíneas, e que estas possam facilitar o início e o processo da sucessão natural, visando a completa cobertura vegetal e a diversidade biológica e funcional no novo ecossistema.

Outra alternativa, é a utilização de inoculantes a base de rizobactérias. O potencial de promoção de crescimento vegetal do gênero *Azospirillum* tem impulsionado estudos visando a aplicação biotecnológica dessas bactérias em culturas comerciais de importância econômica na forma de inoculante. Países como Israel, Argentina, África do Sul, México, Índia, Paquistão, Filipinas e China estão à frente na pesquisa e já possuem inoculantes e biofertilizantes à base de *Azospirillum* spp. registrados e aprovados para uso comercial em culturas em gramíneas (MONSALUD, 2008).

A caracterização de isolados de *Azospirillum* spp., principalmente fisiológica, é essencial para que se conheça o potencial de cada estirpe com relação à contribuição que este poderá trazer para a cultura através da fixação biológica de nitrogênio, produção de hormônios de

crescimento vegetal, solubilização de fosfatos entre outras características importantes para a produção de inoculantes e desenvolvimento de programas de co-inoculação.

A fixação do nitrogênio é um processo biológico restrito a microrganismos procariotos (algumas bactérias e cianobactérias, e também actinomicetos do gênero *Frankia*) que apresentam grande diversidade morfológica, fisiológica, bioquímica, genética e filogenética (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002; SIQUEIRA e FRANCO, 1988). Esses microrganismos, chamados diazotróficos, são capazes de reduzir o nitrogênio atmosférico (N_2) a amônia (NH_3) através da quebra da ligação tríplice do N pela enzima nitrogenase, com um alto consumo de energia na forma de ATP. Após a reação de redução, a amônia é rapidamente convertida a NH_4^+ que ao ser transportado para fora da célula, é assimilado pela célula vegetal sob a forma de glutamina. O processo de FBN é complexo e dependente da expressão de um conjunto de genes denominados *nif*, que codificam as proteínas envolvidas no processo (REIS e TEIXEIRA, 2005; TEIXEIRA, 1997).

Em gramíneas, a FBN é conhecida desde que a bactéria *Beijerinckia fluminensis* foi isolada da rizosfera de cana-de-açúcar por Döbereiner e Rushel (1958), mas foi somente após a redescoberta de bactérias do gênero *Azospirillum* (DÖBEREINER e DAY, 1975) devido ao desenvolvimento do meio de cultura NFb, que pesquisadores tornaram-se interessados pelo estudo da FBN em gramíneas (BALDANI e BALDANI, 2005; BALDANI et al., 1999). Com o avanço da pesquisa, novos meios de isolamento foram desenvolvidos e com isso novos gêneros e espécies de diazotróficos puderam ser identificados (BALDANI e BALDANI, 2005). O gênero *Azospirillum* foi um dos que mais se destacou e além dele outros gêneros são conhecidos pela capacidade de FBN em diversas espécies de gramíneas, entre eles *Gluconacetobacter*, *Beijerinckia*, *Derrxia*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia* e *Klebsiela* (REIS e TEIXEIRA, 2005).

A capacidade do *Azospirillum* spp. de colonizar o interior dos vegetais e sobreviver em regiões de baixa concentração de O_2 levanta hipóteses de que as espécies de origem endofítica sejam mais eficientes na FBN quando comparadas às espécies de colonização rizosférica (BALDANI et al., 1999), e podem contribuir com até 30% do N acumulado pelas plantas (CAMPOS et al., 2003).

Embora ainda não existam produtos registrados à base de *Azospirillum* spp. para aplicação em áreas degradadas, espera-se os investimentos em pesquisa nessa área continuem e que brevemente essa tecnologia esteja disponível á industria mineradora representando ganho econômico e ambiental.

3. CAPÍTULO 1: OCORRÊNCIA E DIVERSIDADE DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM ÁREAS DE MINERAÇÃO DE CARVÃO EM SANTA CATARINA

RESUMO: A mineração de carvão a céu aberto causa graves problemas ambientais. A deposição dos estéreis e rejeitos nas cavas ocasiona a contaminação do solo construído com pirita, gerando problemas de acidificação e de perdas de nutrientes. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são componentes da biota do solo e essenciais a sustentabilidade dos ecossistemas e ao estabelecimento de plantas em programas de revegetação em áreas degradadas e ou contaminadas. O estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência e a diversidade de FMAs em solos reconstruídos após mineração de carvão a céu aberto. Foram avaliadas as seguintes áreas: 1) terreno reconstruído após mineração de carvão e revegetada com *Brachiaria decumbens* (Bd); 2) terreno reconstruído usado para fins agrícolas (Ag), com plantio de fumo e aveia no primeiro ano de cultivo (2009) e em pousio em 2010; 3) terreno reconstruído utilizando deposição superficial de estéril e abandonada (Ab), com ocorrência de plantas espontâneas e de mudas de eucalipto; 4) e uma área de pastagem naturalizada (Pn). Determinou-se a diversidade de FMAs nas áreas por meio dos índices de Dominância de Simpson (Ds), de Diversidade de Simpson (Is), de Diversidade de Shannon (H'), Riqueza de espécies (R). Também foi determinada, a densidade de esporos de FMAs, a percentagem de colonização radicular, o comprimento de hifas e o potencial de inóculo FMAs no solo. As áreas foram comparadas utilizando Análise estatística multivariada do tipo Canônica Discriminante (ACD). Dentre as espécies de FMAs encontradas nas áreas de estudo, sete foram recuperadas através de vasos de culturas armadilhas: *Acaulospora sp.*, *A. foveata*, *A. mellea*, *A. scrobiculata*, *Glomus sp.*, *Glomus clarum* e *Gigaspora sp.*, e quatro espécies no campo: *Acaulospora koskei*, *Entrophospora colombiana*, *Paraglomus occultum* e *Scutelospora heterogama*. Em Ag e Bd, apenas uma espécie foi encontrada, *S. heterogama* e *E. colombiana*, respectivamente. Em Ab observou-se *E. colombiana* e *P. occultum*. A ACD indicou a colonização radicular como principal atributo microbiológico discriminante entre as áreas estudadas. A baixa diversidade e o baixo número de esporos de FMAs observados nas áreas sugere a necessidade do estabelecimento de programas de inoculação destes fungos em plantas como estratégia de revegetação dos solos construídos após a mineração de carvão no Sul de Santa Catarina.

PALAVRAS-CHAVE: índices de diversidade, fungos micorrízicos arbusculares, mineração de carvão

OCCURRENCE AND DIVERSITY ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN AREAS OF COAL MINING IN SANTA CATARINA STATE

ABSTRACT: The revegetation of soils constructed after coal mining is one of the most challenging problems in the South Brazil. The superficial contamination with pyrite coal residues causes acidification and accelerates the mineral weathering, increases Al and Mn contents. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are essential for ecosystem sustainability and establishment of plants in revegetation programs of degraded areas. The present work evaluated AMF Biodiversity and occurrence in three constructed mining soils: covered with *Brachiaria decumbens* (Bd); with agricultural use (Ag) and abandoned area (Ab) in Santa Catarina State, Brazil. A grassland area (Pn) was used as control treatment. A comparison was made between these areas using Canonical Discriminant Analysis (CDA), a multivariate statistical tool. Assessment included AMF species richness (R), Shannon's diversity index (H), Simpson's dominance index (L), AMF spores density, percent root colonization and AMF, soil hyphal length, soil inoculum potential, at two sampling years. Four species were observed in the studied areas: *Acaulospora koskei* Blaszkowski; *Entrophospora colombiana* Spain & Schenck, *Paraglomus occultum* (Walker) Morton & Redecker and *Scutelospora heterogama* Nicol. & Gerd. The Ag and Bd constructed soils showed only one fungal specie, *S. heterogama* and *E. colombiana*, respectively. In Ab area occurred *E. colombiana* and *P. occultum*, the last with highest frequency of spores (90%). The natural sistem, Pn, had *A. koskei* and *S. heterogama*. This results was the same in 2009 and 2010 sampling. Mycorrhizal root colonization was lowest in Bd and Ab, which is related to low soil inoculum potential. CDA indicated root colonization as the ecological attribute that contributed the most to distinguish the between areas. The low AMF diversity and spores numbers suggest the necessity of a inoculation program in coal minig areas of South Brazil.

KEY WORDS: diversity index, arbuscular mycorrhizal fungi, coal mining.

3.1. INTRODUÇÃO

No Brasil a exploração de carvão mineral teve início no século XIX na região de Lauro Müller, Santa Catarina (CETEM, 2001), caracterizando-se desde então como uma atividade fundamental ao desenvolvimento de toda região. Apesar de importante recurso energético, a extração, o beneficiamento e a utilização do carvão mineral são atividades potencialmente poluidoras, representando elevado risco de comprometimento ambiental, como a alteração dos recursos hídricos, além da interferência no microclima e na ciclagem de nutrientes (GAIVIZZO et al., 2002).

A mineração de carvão é realizada por meio de dois métodos de lavras distintos: a lavra subterrânea e a lavra a céu aberto. A lavra a céu aberto, que teve início na década de 40, é empregada na região sul-catarinense quando as camadas de carvão se encontram a uma profundidade de até 30 metros da superfície do solo (ALEXANDRE, 1999). No processo de mineração a céu aberto (sem cuidados ambientais), a remoção das camadas é comumente realizada de forma desordenada (DIAS, 1998) provocando inversão das mesmas e gerando as paisagens lunares. A maioria das pilhas resultantes desta mineração tem na sua base a camada fértil do solo e no seu ápice, os arenitos, siltitos, folhelhos e rejeitos carbonosos, ou seja, a vegetação original é inevitavelmente destruída, e os solos são perdidos ou enterrados com os resíduos, alterando suas condições estruturais e hídricas. A redução da macroporosidade e da infiltração de água, que ocasiona aumento do escoamento superficial e do transporte de solo pela erosão, compromete o processo de recuperação (GUEBERT e GARDNER, 2001).

Alem disso, a acidez e os metais pesados no solo de áreas mineradas atuam como fator limitante (ZOCHE, 1989) na medida em que provocam distúrbios fisiológicos, que podem reduzir ou mesmo inibir o desenvolvimento vegetal (ZOCHE, 2002) influenciando a estrutura e composição da vegetação que coloniza estas áreas (WONG, 2003).

A ocorrência e diversidade dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), Filo Glomeromycota, classe Glomeromycetes (glomeromicetos), esta intimamente ligada à diversidade e à produtividade das comunidades vegetais por isso são considerados membros importantes do sistema solo/planta e alternativa muito utilizada no processo de

revegetação de áreas degradadas. Os FMAs são simbioses obrigatórios que favorecem a absorção de nutrientes, principalmente o fósforo pela planta e esta, por sua vez, retribui com compostos de carbono provenientes da fotossíntese. Além disso, as micorrizas melhoram a relação água-solo-planta, alteram a relação planta-patógenos, reduzem dos efeitos adversos do pH, da toxidez de alumínio, da salinidade e aumentam da produção de fitohormônios (SMITH e READ, 1997).

Diversos relatos indicam a ocorrência dos FMAs em solos degradados (GAUR e ADHOLEYA, 2004; SILVA et al., 2005; STÜRMER e SIQUEIRA, 2006), em áreas contaminadas com resíduos de petróleo (NAKATANI, 2007), em áreas contaminadas com metais pesados (KLAUBERG-FILHO, et al., 2002), em mineração de cobre (SILVA, et al., 2005) e de bauxita (MELLONI et al., 2003; CAPRONI et al., 2003), entre outros. Estes fungos apresentam grande capacidade de adaptação à fatores de estresse como déficit hídrico, acidificação, alto teor de metais, desagregação do solo, assim como ausência ou pouca cobertura vegetal.

Condições de estresse causadas pela mineração de carvão reforçam a simbiose entre planta hospedeira e fungo micorrízico (TAHERI et al., 2010). Na China Chen et al. (2005-2007), observaram que gramíneas nativas possuíam alta taxa de colonização micorrízica (>50%) em áreas de mineração de carvão em recuperação, o que contribuiu para a sua fitoestabilização. Também observaram que *G.mosseae* contribuiu eficientemente para o estabelecimento de gramíneas nestas áreas impactadas. Corbett et al. (2006) estudaram a ocorrência de FMAs em áreas de mineração de carvão nos Estados Unidos e verificaram a presença de 5 espécies de FMAs, pertencentes aos gêneros *Glomus*, *Gigaspora* e *Scutellospora*.

Diversos estudos realizados em solos dessas áreas de mineração de carvão, nos EUA (KIERNAN et al., 1983; WALLAND e ALLEN, 1987) e de magnesita e carvão, na Índia (RAMAN et al., 1993; MEHROTRA, 1998), mostraram redução do número de propágulos desses fungos e baixa colonização das plantas locais. A substituição da camada superficial do solo original por outra com baixo número de propágulos, o longo tempo de armazenamento desta camada superficial antes da reabilitação, a destruição física da rede micelial (JASPER et al., 1992), a retirada da vegetação, a exposição dos propágulos a extremos de umidade e temperatura (McGONIGLE e MILLER, 1999) e baixos valores de pH (MEHROTRA, 1998) reduzem a densidade e diversidade desses fungos.

No Brasil os estudos sobre a diversidade de FMAs em áreas de mineração de carvão são escassos, sendo os principais estudos realizados em áreas de mineração de bauxita e zinco

(KLAUBERG-FILHO, et al., 2002; MELLONI et al., 2003; CAPRONI et al., 2003). Gaivizzo et al. (2002), no Rio Grande do Sul, em experimento a campo observou que o potencial acidificante do rejeito carbonífero reduziu drasticamente a população microbiana no solo (bactérias, actinomicetos e fungos), entretanto não foram avaliados aspectos relacionados à comunidade de FMAs. Na bacia carbonífera catarinense, diversos estudos foram realizados voltados para atributos químicos e físicos do solo (CAMPOS et al., 2003; LUNARDI et al., 2008; MAÇANEIRO, 2001) e fauna do solo (CORREIA, 2010). Mendonça (2002) avaliou o, entre outros atributos microbiológicos, o comprimento de micélio micorrízico no solo e verificou que este atributo constituía importante indicador de alterações em solos minerados.

Estudos sobre a ocorrência e diversidade da comunidade de FMAs, seu papel e interações com o meio abiótico constituem requisitos básicos para o estabelecimento de estratégias de inoculação de espécies efetivas ou de manejo de populações nativas, que favoreçam o estabelecimento e crescimento de plantas, sua sobrevivência e persistência em solos degradados. É imprescindível considerar a importância que a ecologia dos FMAs assume quando o interesse está no manejo agrícola e ambiental dos efeitos benéficos da simbiose (SIQUEIRA, 1994). Nos programas de recuperação de áreas mineradas, a utilização de inoculantes fúngicos só poderá ser feita após o conhecimento da diversidade e do potencial de inóculo das comunidades micorrízicas nestas áreas.

Considerando o relevante papel desempenhado pelos fungos micorrízicos arbusculares, este estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência e a diversidade de FMAs em solos reconstruídos após a mineração de carvão no sul de Santa Catarina.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram conduzidas no Distrito de Guatá (28°20'S e 49°20' W), município de Lauro Müller-SC, nos meses de março de 2009 e março de 2010. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo mesotérmico úmido com verão quente (Cfa), com precipitação e temperatura média anual de 1.400 mm e 19 °C. As litologias verificadas na região constituem parte das formações gonduânicas da Bacia do Paraná, representadas localmente pelas Formações Palermo e Rio Bonito, camada minerada Barro Branco (BRASIL, 1987).

O estudo da ocorrência e diversidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) foi realizado em quatro áreas: 1) terreno reconstruído após mineração de carvão e revegetada com *Brachiaria decumbens* (Bd); 2) terreno reconstruído usado para fins agrícolas (Ag), com plantio de fumo e aveia no primeiro ano de cultivo (2009) e em pousio em 2010; 3) terreno reconstruído utilizando deposição superficial de estéril e abandonada (Ab), com ocorrência de plantas espontâneas e de mudas de eucalipto; 4) e uma área de pastagem naturalizada (Pn) nas proximidades das outras três áreas estudadas (Figuras 1)



Figura 1. Áreas de estudo no município de Lauro Müller, SC. a) terreno reconstruído após mineração de carvão e revegetada com *Brachiaria decumbens* (Bd); b) terreno reconstruído usado para fins agrícolas (Ag), com plantio de fumo e aveia no primeiro ano de cultivo (2009) e em pousio em 2010; c) terreno reconstruído utilizando deposição superficial de estéril e abandonada (Ab), com ocorrência de plantas espontâneas e de mudas de eucalipto; d) e uma área de pastagem naturalizada (Pn)

Em cada área foi estabelecida uma grade com 20 pontos distribuídos de forma equidistante (10mx10m). Nos pontos foram coletadas amostras de solos a profundidade de 0-10 cm e amostras de raízes, quando havia plantas presentes. As amostras de solo foram utilizadas para montagem de “culturas armadilhas”, onde o solo foi misturado com areia estéril (1:1) e acondicionado em vasos de 3,0 kg, com *Sorghum bicolor*. Após quatro meses em casa de vegetação, os esporos foram recuperados de amostras de 50 ml de solo para determinação das espécies de FMAs nos vasos de cultivo.

A extração dos esporos de FMAs no campo e nos vasos de cultura armadilha foi feita utilizando o método de peneiragem úmida, seguida centrifugação em gradiente de sacarose (20% e 60%), conforme Gerdemann e Nicolson (1963). Os esporos extraídos foram colocados lâminas permanentes montadas com PVLG e PVLG misturado ao Reagente de Melzer. Aspectos morfológicos, coloração e tamanho dos esporos foram utilizados para determinação das espécies, além da comparação com a descrição das espécies encontrada nas páginas do INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>).

Para determinação da colonização micorrízica das raízes das plantas (espontâneas ou cultivadas) nas áreas, as raízes foram preparadas conforme método descrito por Koske e Gemma (1989), e a porcentagem de colonização do sistema radicular foi determinada pelo método de linhas cruzadas (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980). O potencial de inóculo micorrízico nas amostras de solo foi estimado pelo método descrito por Moorman e Reeves (1979). Para tanto, o solo de cada amostra foi diluído em areia (1:1), colocado em cone de 270 ml e semeado com *Sorghum bicolor*. Após a germinação, foi feito o desbaste para deixar apenas uma planta por cone. Após 21 dias as raízes foram separadas do solo e preparadas de acordo com o método de Koske e Gemma (1989) e a porcentagem de colonização radicular estimada de acordo com Giovannetti e Mosse (1980).

A quantificação do comprimento de micélio extra-radicular total no solo (CMET) foi realizada conforme descrito por Melloni (1996). Duas sub-amostras de solo, com aproximadamente 10 g cada, foram usadas para a extração do CMET, sendo que uma terceira foi reservada para determinação da umidade após secagem em estufa durante 24 horas. A extração do micélio foi realizada suspendendo-se as amostras de solo em 0,5 L de água e passando-se o sobrenadante em peneiras sobrepostas, com malhas de 1 e 0,25 mm. Esta operação foi realizada por três vezes e o filtrado foi submetido à agitação em liquidificador durante 30 segundos na menor velocidade. Após um período de repouso de 2 minutos, foram retirados 500 mL de sobrenadante, que foi passado por uma peneira de 0,053 mm. O material retido nesta peneira foi filtrado a vácuo em membrana quadriculada de triacetato de celulose, com diâmetro de 4,7 cm e porosidade de 0,47 µm. Em seguida, a membrana foi colocada sob lâmina de vidro de 5 x 5 cm, lubrificada com uma gota de óleo de amêndoas para facilitar a visualização no microscópio óptico. Foram avaliados 64 campos em cada membrana, determinando-se o número de intersecções de hifas com as linhas horizontais de uma grade (8 x 8 quadrículos de 1 mm) na ocular do microscópio no aumento de 162,5 vezes. Em uma das oculares foi acoplada uma lente com grade de 20 x 20 quadrículos. Foi determinado o número de intersecções das hifas com as linhas horizontais da grade da ocular. O comprimento do micélio extra-radicular total, expresso em centímetros de hifa por grama de solo seco, foi obtido pela seguinte relação:

$$C = [(0,0347 \cdot N) / (10 - U)] \cdot 100, \text{ onde:}$$

C = comprimento de micélio extra-radicular total, em centímetros de hifa por grama de solo seco;

N = soma do número de intersecções entre as hifas e linhas horizontais do gride;

U = umidade da amostra de solo, expressa em gramas de água.

Foram determinados os seguintes atributos químicos do solo: pH em água e teor de P no solo utilizando as técnicas descritas por TEDESCO et al. (1995). A área Ab apresentou o pH igual a 4,4, a área de Pa apresentou pH = 4,8; Bb e Ag tiveram pH = 5,0. Os teores de P (mg Kg^{-1}) tiveram valores próximos para Ab, Bd e Ag (0,786; 0,772 e 0,754, respectivamente). A área de pastagem apresentou $0,854 \text{ mg Kg}^{-1}$ de P.

A partir da identificação das espécies de FMAs determinou-se a riqueza (R), com base no número total de espécies presentes em cada área. A abundância relativa (AR) das espécies de FMAs nas áreas foi determinada como o número de amostras de solo contendo uma determinada espécie dividido pelo número total de amostras ($n=20$) x 100 e a frequência absoluta. Foram calculados três índices ecológicos: Índice de Dominância de Simpson (Ds), Índice de Diversidade de Simpson (Is) e Índice de Diversidade de Shannon (H') de acordo com BROWER e ZAR (1984). Estes índices foram escolhidos por representarem a diversidade levando-se em conta não somente o número de espécies, mas também a uniformidade de ocorrência dos indivíduos.

O Índice de Dominância de Simpson (Ds) foi calculado segundo a relação:

$$Is = \sum \left(\frac{ni(ni-1)}{N(N-1)} \right); \text{ onde:}$$

ni = número de indivíduos da espécie i ; N = número total de indivíduos.

O Índice de Diversidade de Simpson (Is), contrário ao Is, é expresso pela diferença:

$$Ds = 1 - Is$$

O terceiro índice utilizado, H', foi obtido pela relação:

$$H' = -\sum pi \log pi, \text{ sendo que } pi = ni/N, \text{ onde:}$$

ni = número de indivíduos da espécie i dentro de uma determinada amostra;

N = número total de indivíduos da área estudada como um todo.

Para atenderem-se as pressuposições teóricas implícitas dos testes, houve necessidade de se transformar as variáveis referentes ao potencial de inóculo e colonização micorrízica das plantas espontâneas e cultivadas foram transformados pela relação $(\text{Arcoseno}(\sqrt{(x/100))} * 180/\pi)$ a fim de obter-se uma distribuição normal dos dados. O número de esporos foi transformado pela relação $\ln(x+1)$. Os resultados são apresentados na escala original

destas variáveis nas tabelas de médias.

As análises estatísticas foram conduzidas a partir dos dados de todas as unidades experimentais incluídas nas áreas estudadas. Os dados também foram submetidos à análise multivariada por meio de análise discriminante canônica (ADC) (JOHNSON e WICHERN, 2002). Todas as análises foram conduzidas usando-se os procedimentos GLM e CANDISC do software SAS[®] (Statistical Analysis System, 2003) e o software R (R Development Core Team, 2008). Para todos os testes efetuados foi considerado o nível mínimo de significância pelo Teste de Tukey a 5%.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos terrenos reconstruídos após a mineração de carvão no distrito de Lauro Müller-SC, observo-se um total de treze espécies de FMAs. Foram identificadas quatro espécies nas amostras de solo coletadas no campo: *Acaulospora koskei* Blaszkowski, *Entrophospora colombiana* Spain e Schenck, *Paraglomus occultum* (Walker) Morton e. Redecker e *Scutellospora heterogama* Nicol. e Gerd (Tabela 1)

Tabela 1. Número de esporos (NE), abundância relativa (AR), riqueza de espécies de FMAs em terrenos reconstruídos após mineração de carvão no distrito de Lauro Müller-SC.

FMAs	Março de 2009							
	Bd		Ag		Ab		Pn	
	NE ¹	AR ²	NE	AR	NE	AR	NE	AR
<i>Acaulospora koskei</i> Blaszkowski	0	0	0	0	0	0	30,1	64,4
<i>Entrophospora colombiana</i> Spain e Schenck	10,9	100	26,4	83,5	9,22	10,5	0	0
<i>Paraglomus occultum</i> (Walker) Morton e. Redecker	0	0	5,2	16,4	78,4	89,4	0	0
<i>Scutellospora heterogama</i> Nicol. e Gerd.	0	0	0	0	0	0	16,6	35,6
Total	10,9	100	31,6	100	87,6	100	46,7	100
Riqueza	1		2		2		2	

FMAs	Março de 2009							
	Bd		Ag		Ab		Pn	
	NE	AR	NE	AR	NE	AR	NE	AR
<i>Acaulospora koskei</i> Blaszkowski	0	0	0	0	0	0	32,5	61,5
<i>Entrophospora colombiana</i> Spain e Schenck	9,13	30,2	0	0	9,03	15,8	0	0
<i>Paraglomus occultum</i> (Walker) Morton e. Redecker	0	0	3	12,8	46	81	0	0
<i>Scutellospora heterogama</i> Nicol. e Gerd.	21,1	69,7	20,3	87,1	1,77	3,11	20,3	38,4
Total	30,2	100	23,3	100	56,8	100	52,8	100
Riqueza	2		2		3		2	

Bd = área reconstruída após mineração de carvão e revegetada com *Brachiaria decumbens* ; Ag = área reconstruída e usada para fins agrícolas com plantio de fumo e aveia no primeiro ano de cultivo (2009) e em pousio em 2010; Ab = área reconstruída utilizando deposição superficial de estéril e abandonada com ocorrência de plantas espontâneas e de mudas de eucalipto; Pn = área de pastagem naturalizada.

As espécies identificadas a campo foram utilizadas para calcular os índices de diversidade, pois refletem diretamente o impacto da atividade mineradora na população de FMAs.

Tabela 2: Índice de Simpson (Is), Dominância de Simpson (Ds) e Índice de diversidade de Shannon (H) de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), nos terrenos construídos após mineração de carvão com *Brachiaria decumbens* (Bd), com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn).

Índices de diversidade	março/2009				março/2010			
	Bd	Ag	Ab	Pn	Bd	Ag	Ab	Pn
Índice de Dominância de Simpson	0,01	0,24	0,17	0,46	0,42	0,21	0,32	0,47
Diversidade Simpson	0,99	0,76	0,82	0,54	0,58	0,79	0,67	0,52
Índice Shanon-Winner	0,04	0,43	0,33	0,65	0,6	0,37	0,57	0,66

O índice de dominância de Simpson (DS), quando baixo significa que se dois indivíduos de uma mesma comunidade forem tomados aleatoriamente, a probabilidade de pertencerem a mesma espécie é baixa. Alto DS significa agregação dos indivíduos em poucas espécies. Assim pode-se notar que Bd e Ab em 2009 e Ab e Ag em 2010 apresentaram os valores mais baixos, o que contrasta com os valores de IS.

O índice de Simpson (IS) representa a concentração de dominância, assim quanto maior o valor, maior a dominância de uma ou poucas espécies, atribuindo maior valor á espécies comuns. Em 2009 Ab (0,82) e Bd (0,99), apresentaram os maiores valores deste índice, com dominância de *P.occultum* e *E.colombiana*, respectivamente. No ano de 2010 Ab (0,67) e Ag (0,79) apresentaram os maiores valores, reflexo da dominância de *P.occultum* e *S.heterogama*.

Os terrenos reconstruídos após mineração de carvão em Lauro Müller apresentaram dominância e agregação de espécies de FMAs, assim como no estudo realizado por Klauberg-Filho et al, 2002, que concluiu que mudanças no solo causadas pela mineração de Fe em Três-Marias-MG, modificam a riqueza da população de FMAs favorecendo a dominância de uma ou poucas espécies.

O índice de Shanon (H') atribui maior valor a espécies raras, assim em Pn (>0,50) e Bd (mar/2010) os maiores valores foram observados. Em 2009 Ag(0,43) e Bd(0,33) apresentaram os maiores valores de H'e em 2010, Bd (0,42) e Ab (0,57).

Foram identificadas 9 espécies somente após o estabelecimento de culturas armadilhas (Figura 2). Dentre estas espécies encontradas seis foram recuperadas na área controle (Pn): *Acaulospora sp.*, *A. foveata*, *A.koskei*, *A.mellea*, *A. scrobiculata*, e *Gigaspora sp.* nos dois anos. Possivelmente estas espécies estavam no interior das raízes, sem esporularem na época da coleta. Na área Bd foram recuperadas duas espécies: *Glomus sp.*(54,27%), em 2009, e

E.colombiana (46,41%), em 2010. Estas espécies foram as de maior frequência nos vasos de cultura armadilha. É importante lembrar que a cultura armadilha é uma forma de recuperar as espécies de FMAs em condições controladas de casa de vegetação, porém estas condições podem favorecer ou não a esporulação das espécies de FMAs considerando as diferentes condições que contribuíram para o desenvolvimento destas espécies no campo .

A espécie *G.clarum* foi recuperada em 2009 na área Ab (25,79%) e em 2010 em Ag (10,18%).

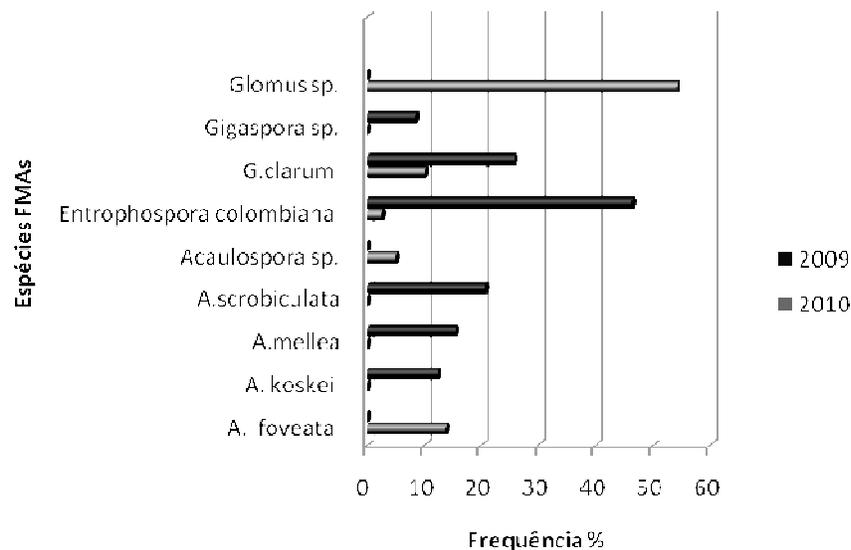


Figura 2. Frequência de ocorrência das espécies de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) em vasos de cultura armadilha nas áreas de mineração de carvão em Lauro Müller-SC, no anos de 2009 e 2010.

No ano de 2009 todas as áreas com solos reconstruídos tiveram a ocorrência da espécie *E. colombiana*. Esta foi também a espécie com maior frequência (100% em Bd, e 83,57 em Ag). A segunda espécie com maior ocorrência foi *P.occultum* em Ag (16,42%) e Ab (89,4%). As outras espécies identificadas a campo foram de ocorrência na área controle (P). Na coleta de 2010 a espécie *S.heterogama* teve ocorrência em todas as áreas e apresentou maior frequência nas áreas cultivadas: Bd (69,79%) e Ag (87,15%). A espécie *P.occultum* obteve novamente maior frequência para Ab (81%) e *E.colombiana* teve ocorrência em Bd (30,205) e Ab (15,88%).

Indicando dominância da espécie *P. occultum* quem apresentou a maior densidade de esporos (78 esporos g-1 solo/2009 e 48 esporos g-1 solo/2010) dentre todas as áreas estudadas, o que pode estar relacionado a uma maior adaptação aos estresses oriundos do

processo de acidificação do solo. Estudos realizados em áreas de mineração de cobre em Jaguará (SILVA et al., 2005), em área contaminadas com metais pesados em Três Marias (KLAUBERG-FILHO et al., 2002) esta espécie também foi identificada. *P. occultum* também foi encontrado em vários ecossistemas brasileiros (STÜRMER e SIQUEIRA, 2008) confirmando a ampla ocorrência e promiscuidade deste fungo a diferentes hospedeiros e condições.

De forma semelhante, a espécie *E.colombiana* também apresentou ampla ocorrência e frequência e foi observada nos dois anos de coleta em Bd (100% frequência em 2009 e 30,20% em 2010) e Ab (10,5% de frequência em 2009 e 15,81% em 2010) e em 2009 em Ag (26,4%). Esta espécie em outros estudos revelou ocorrência em solos degradados mineração de bauxita em Porto de Trombetas (CAPRONI, et al 2003).

Os terrenos reconstruídos, seja com plantios de interesse agrícola ou com plantio de *Brachiaria decumbens*, para pastagem, apresentaram poucas espécies para cada área, com número de esporos bastante baixo em comparação ao daqueles observados em área agrícolas e em ecossistemas naturais. O que poderia explicar este baixo número de esporos e de espécies de FMAs em áreas de mineração de carvão onde a cava é preenchida com estéril e uma camada de horizonte C de solos adjacentes, assim provocando perdas de biodiversidade devido às mudanças na cobertura vegetal do solo (TILMAN et al. 2001). A remoção de vegetação da camada fértil, o empilhamento do solo e o revolvimento das camadas causam profundas alterações nas características do solo, resultandonos mais avançados graus de degradação (FOLEY et al., 2005)

Os FMAs são encontrados geralmente com facilidade em solos e plantas de áreas degradadas, o número de propágulos viáveis, porém, geralmente, é muito baixo, havendo a necessidade de introduzir plantas hospedeiras capazes de multiplicar os FMAs existentes ou introduzir também propágulos infectivos de isolados selecionados para garantir a recuperação da comunidade dos FMAs nas áreas (SIQUEIRA et al., 2007), tendo em vista tratar-se de um componente essencial para a recuperação de ambientes degradados pela mineração de carvão.

A colonização micorrízica no ano de 2009 foi maior para Bd e Ag e em 2010 para Ab e P. A taxa de colonização foi observada nos dois anos para a área P (53,5% e 63,3%) As áreas Bb (20,25%) e Ag (20,09%) não apresentaram diferença significativa em 2009, enquanto que Ab (4,5%) foi a área que teve a taxa de colonização mais baixa.

Para o ano de 2010 Ag foi quem apresentou a taxa de colonização mais baixa (0,43%). Isto pode ser atribuído ao estado de pousio que se encontrava a área neste período de coleta (Figura 3).

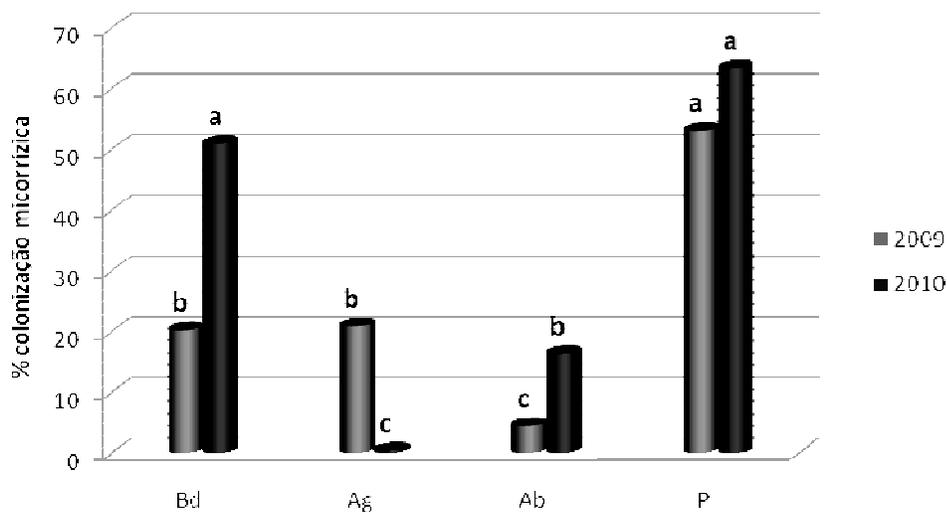


Figura 3. Colonização radicular (%) de fungos micorrízicos arbusculares nos solos construídos após mineração de carvão com *Brachiaria decumbens* (Bd), em área com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn). Para o mesmo ano, médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ($P \leq 0,05$).

O comprimento de micélio extra-radicular foi menor em Ab nos dois anos de coleta (0,48 m hifa g/solo seco em 2009 e 1,26 m hifa g/solo seco em 2010). Em 2009 Bd que teve o maior comprimento de micélio 12,51 m hifa g/solo seco.

No ano de 2010 Bd (3,04m hifa g/solo seco) foi estatisticamente igual a Pn (5,87 m hifa g/solo seco). Enquanto que Ag (1,75 m hifa g/solo seco) teve seu valor próximo a Ab (1,26 m hifa g/solo seco) (Figura 4).

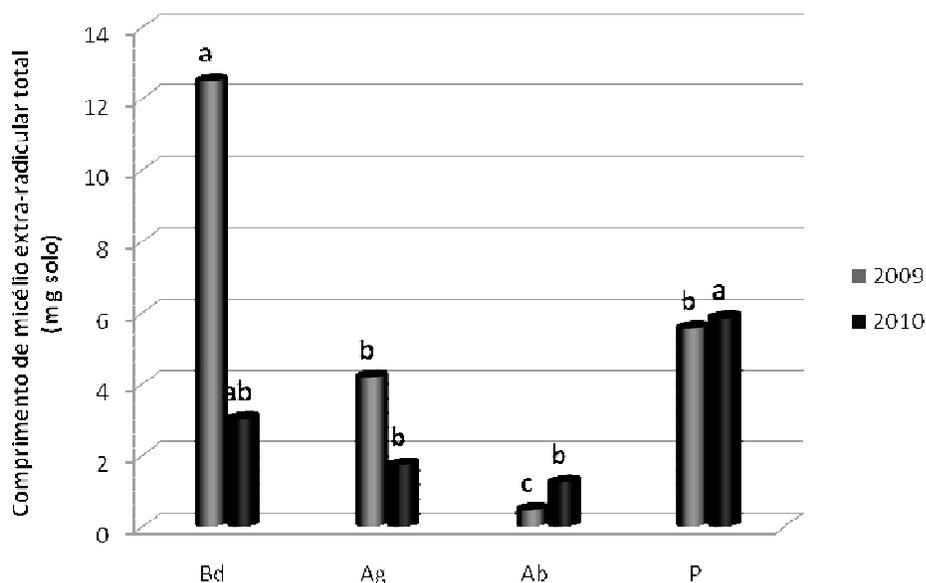


Figura 4. Comprimento de micélio extra-radicular total (metros por grama de solo) de fungos micorrízicos arbusculares nos solos construídos após mineração de carvão com *Brachiaria decumbens* (Bd), em área com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn), nos anos de 2009 e 2010. Para o mesmo ano, médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ($P \leq 0,05$).

A mineração também causa severa degradação ambiental, causando o rompimento da rede micelial dos FMAs (ENKHTUYA et al., 2000) e, de acordo com Mehrotra (1998), os baixos valores de pH encontrados em solos degradados contribuem para reduzir a infectividade de solo degradado.

Mehrotra et al (1998) em área de mineração de carvão na Índia identificou 20% a 95% de colonização micorrízica que foi estimulada pela presença ou não da comunidade vegetal. Mendonça (2002), testando doses de matéria orgânica e calcário em áreas de mineração de carvão detectou que estrutura fúngicas como micélio extra-radicular de gramíneas reduz drasticamente com a mineração com valores de 2,8 m hifa g/solo seco. Em contrapartida solos com adição de calcário e cama de aves atingiu valores de 12,1 m hifa g/solo seco.

As áreas cujos solos foram reconstruídos (Ag, Bd e Ab) apresentaram potencial de inoculo micorrízico igual ou inferior a 50%, chegando a valores de apenas 2%, em comparação a área de pastagem apresentou os maiores valores, com 70 e 65% de potencial de inoculo nas duas amostragens realizadas (2009 e 2010). Este baixo potencial de inoculo está associado à baixa densidade de esporos e de hifas e do percentual de colonização observados nas áreas reconstruídas (Figura 5).

Portanto concordando com este dados Brundrett et al. (1991) observaram em seus estudos que atividades que envolvam revolvimento excessivo do solo, como a mineração, reduz consideravelmente o número de propágulos viáveis, na germinação dos esporos e crescimento de hifas, que prejudicam a persistência, sobrevivência e diversidade destes fungos em comparação a sistemas naturais sem influência antrópica.

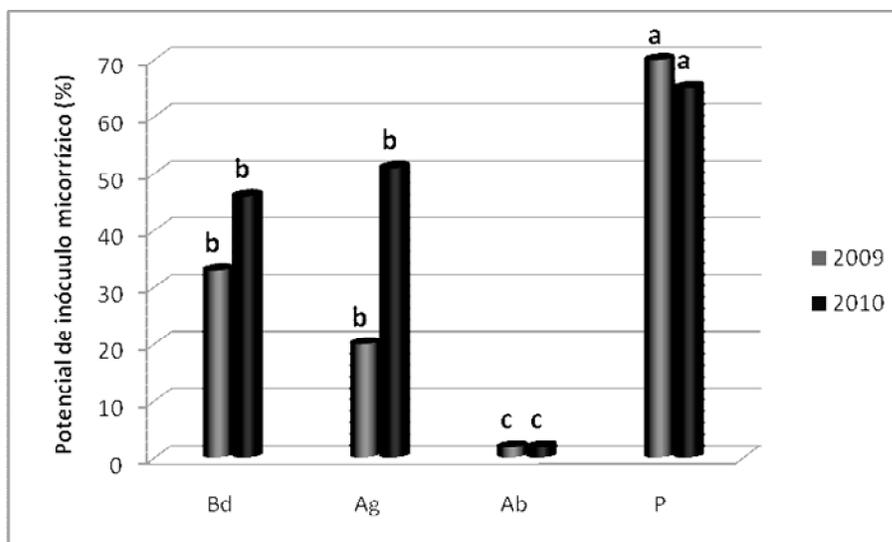


Figura 5: Potencial de inóculo (%) de fungos micorrízicos arbusculares nos solos construídos após mineração de carvão com *Brachiaria decumbens* (Bd), em área com uso agrícola (Ag), abandonada (Ab) e em área de pastagem natural (Pn), nos anos de 2009 e 2010. Para o mesmo ano, médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si ($P \leq 0,05$).

As alterações nos ecossistemas causadas pelas atividades antrópicas interferem na formação dos FMAs (KLAUBER-FILHO, 1999), Dados compilados em vários estudos por Miller e Jastrow (1992), revelaram que a infectividade micorrízica do solo reduzia, em média, de 59 para apenas 20% após alguns anos de empilhamento da camada superficial do solo.

Carneiro (1997), observou em solo degradado pela retirada da camada superficial para a construção de uma barragem, que a densidade de esporos era de apenas três esporos em 50 mL de solo, enquanto que em área recuperada com braquiária foram recuperados cerca de 549 esporos, diferente do que ocorreu neste estudo, onde a área Ab teve maior densidade de esporos que Bd, porém o potencial de inóculo micorrízico em Ab foi extremamente baixo (2%) comparado com as demais áreas. Chen et al (2005), na China devido a alta toxicidade de

metais e acidez elevada em que se encontrava o solo após a mineração de carvão encontrou taxa de colonização micorrízica 0%.

Melloni et al (2003), estudando a densidade e a diversidade de FMAs em áreas de mineração de Bauxita, verificaram que a mineração reduziu a ocorrência de FMAs. A colonização micorrízica, número de esporos, de propágulos totais, micélio extra-radiculares e diversidade, evidenciando o forte impacto da mineração sobre os FMAs. Por outro lado, o mesmo estudo mostrou que a introdução de plantas herbáceas, entre elas a braquiária, nos locais minerados promoveu a rápida recuperação da infectividade do solo. O que é confirmado neste estudo. Onde Bd/2009 aumentou 10 vezes o valor de potencial de inóculo micorrízico e Bd/2010 mais de 20 vezes em comparação á Ab.

Para a separação das áreas foi utilizada a Análise Canônica Discriminante (ACD), esta análise é considerada importante para estudo de comunidades biológicas do solo, pois mostram quais são os atributos que mais contribuem para a separação de áreas (MOYNAHAN et al., 2002)

A lógica da ADC consiste em obter uma combinação linear (Z) das variáveis independentes (Y), de forma que a correlação entre Z e Y seja maximizada. A ADC transforma as variáveis originais em um número pequeno de variáveis compostas, denominadas funções canônicas discriminantes (FCDs). Elas consistem nos pesos canônicos das variáveis originais, que fornecem informações sobre o poder de discriminação de cada uma delas. Como nosso estudo compreendeu quatro áreas (Ab, Bd, Ag e P), foram extraídas três duas funções discriminantes canônicas (FDCs), das quais serão discutidas apenas as duas primeiras, uma vez que, elas representaram 90,24% e 94,12% da variação total para os anos de 2009 e 2010, respectivamente.

Os coeficientes de correlação (r) (Tabelas 5 e 6) refletem informações univariadas e demonstram a contribuição individual de cada atributo micorrízico estudado na separação das quatro áreas avaliadas, enquanto os coeficientes canônicos padronizados (CCP) representam o comportamento multivariado dos diferentes atributos em cada FDC. A taxa de discriminação paralela (TDP) (Tabelas 3 e 4) é resultante da multiplicação de r por CCP. Valores positivos de TDP indicam que o atributo contribui para a separação entre as áreas. Atributos com valores mais altos apresentam maior peso na separação.

Tabela 3. Coeficientes canônicos padronizados (CCP), coeficientes de correlação linear (r) e taxa de discriminação paralela (TDP) das variáveis estudadas em relação aos dois primeiros eixos canônicos. Amostragem em março de 2009, Lauro Müller, SC (n=20).

Atributo	FDC ₁ (61,34%)			FDC ₂ (28,90%)		
	R	CCH	TDP	r	CCH	TDP
Colonização micorrízica	0,8763	1,12	0,98146	0,0917	-0,2675	-0,0245
Micélio total	0,1665	0,2189	0,03645	-0,5006	-0,3819	0,19118
Número de esporos						
<i>Paraglomus occultum</i>	-0,3418	-0,2572	0,08791	0,2627	0,1881	0,04941
<i>Enthrophospora colombiana</i>	-0,4731	-0,5671	0,2683	0,4684	0,5713	0,2676
<i>Scutelospora heterogama</i>	0,7326	-0,0578	-0,0423	-0,4332	-1,6363	0,70885
<i>Acaulospora koskei</i>	0,9021	1,1245	1,01441	0,2802	2,0301	0,56883

Tabela 4. Coeficientes canônicos padronizados (CCP), coeficientes de correlação linear (r) e taxa de discriminação paralela (TDP) das variáveis estudadas em relação aos dois primeiros eixos canônicos. Amostragem em março de 2010, Lauro Müller, SC (n=20).

Atributo	FDC ₁ (77,55%)			FDC ₂ (16,57%)		
	r	CCH	TDP	r	CCH	TDP
Colonização micorrízica	0,9323	2,1047	1,9622	0,3031	10,306	3123,74
Micélio total	0,5528	0,1756	0,0970	-0,0125	-0,1499	8
Número de esporos						0,001
<i>Paraglomus occultum</i>	-0,2787	0,0003	-0,00008	-0,0689	0,1836	-0,0126
<i>Enthrophospora colombiana</i>	-0,0178	-0,0219	0,0003	0,8845	1,1206	0,9911
<i>Scutelospora heterogama</i>	0,3542	0,1637	0,0579	-0,0912	-0,1264	0,0115
<i>Acaulospora koskei</i>	0,8237	1,3321	1,0972	-0,4514	-0,9251	0,4175

Á exemplo do ocorrido para os atributos biológicos em outros estudos (PURIN, 2005; ALBUQUERQUE, 2003), a análise discriminante canônica definiu funções de classificação que possibilitaram a separação das áreas. A estatística lambda de Wilks foi significativa ($p < 0,0001$), indicando que houve separação entre as áreas estudadas, baseada nos atributos microbiológicos, resultado ratificado pela análise da distância generalizada de Mahalanobis ($p < 0,05$). Este comportamento, similar para os dois anos, também pode ser observado nas Figuras 6 e 7. As duas primeiras FDCs, FDC₁ e FDC₂, representaram 61,34% e 28,90% da variação total para 2009 e 77,55% e 16,57% da variação total para 2010, respectivamente. A FDC₁ apresentou um coeficiente de correlação canônica de 0,89 para 2009 e 0,94 para 2010, o que é um indicativo do alto grau de associação entre as variáveis e as áreas estudadas.

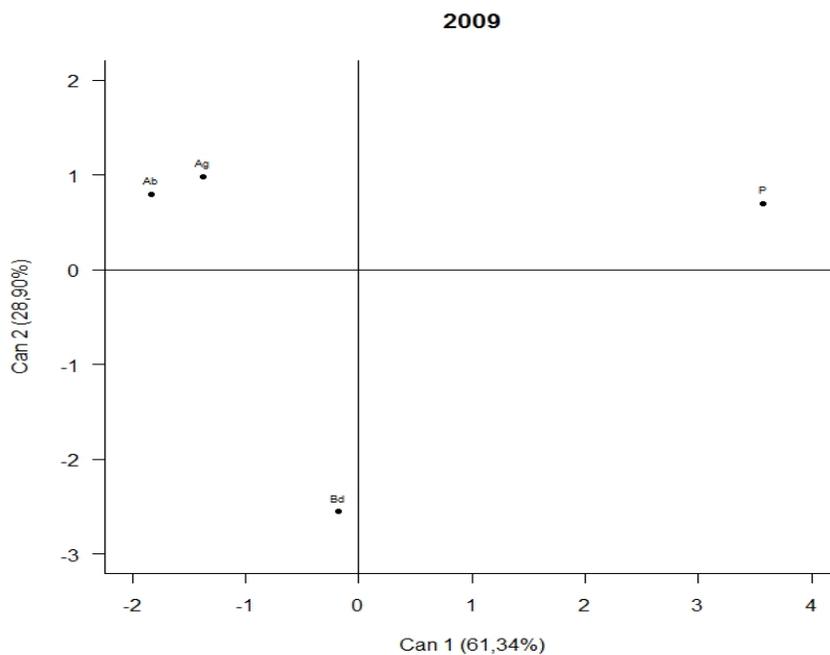


Figura 6. Relação entre a primeira e segunda função canônica discriminante (CAN1 e CAN2) para os atributos microbiológicos nos solos construídos após mineração de carvão, com *Brachiaria decumbens* (Bd), com uso agrícola (Ag), abandonado (Ab) e em área de pastagem natural (Pn), em março de 2009. Lauro Müller, SC (n=20).

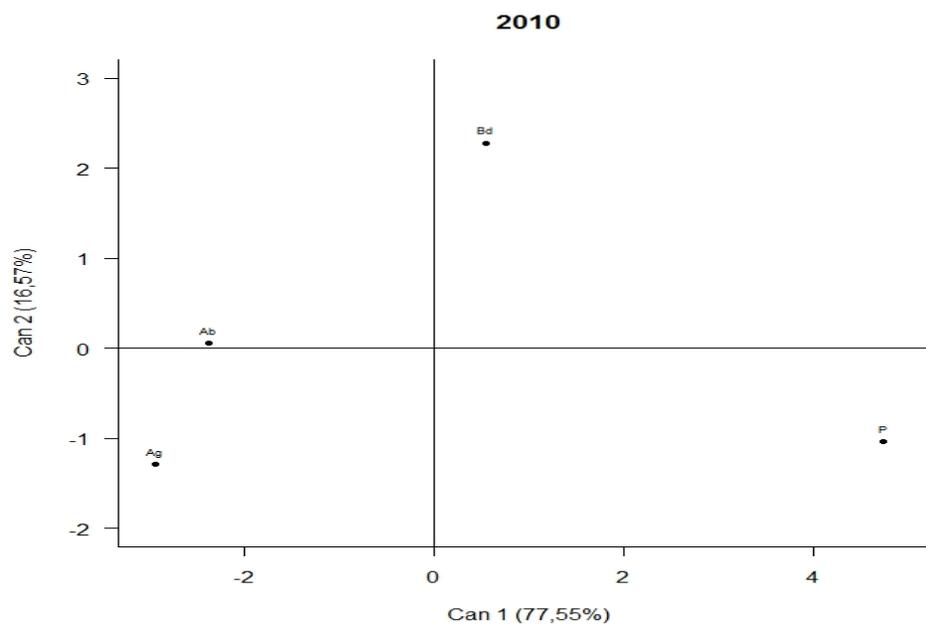


Figura 7. Relação entre a primeira e segunda função canônica discriminante (CAN1 e CAN2) para os atributos microbiológicos nos solos construídos após mineração de carvão com *Brachiaria decumbens* (Bd), com uso agrícola (Ag), abandonado (Ab) e área de pastagem natural (Pn), em março de 2010. Lauro Müller, SC (n=20).

Purin et al. (2005), em pomares de maçã no planalto catarinense, observaram através da ACD que o Pomar Orgânico aproximava-se mais do Campo Nativo que o Pomar Convencional quando se considerou as variáveis micélio total e índices de diversidade. Ainda no mesmo trabalho o teor de alumínio no solo, o comprimento de micélio Extra-radicular total e o teor de glomalina total foram os três indicadores que mais refletiram as alterações no solo, nas condições estudadas; sendo recomendados para avaliar os efeitos do manejo de pomares orgânicos e convencionais frente à condição natural de uso do solo.

Moreira et al (2007), em florestas de araucária, concluiu que o índice de diversidade de Shannon (H') foi o atributo que contribuiu para a distinguir os floresta nativa e replantada quanto a diversidade dos FMAs. Moreira et al (2006), também em florestas da araucária utilizando a ACD, observaram separação entre as três áreas estudadas, através da colonização micorrízica e número de esporos, onde a área mais impactada com queima acidental foi a mais distante em relação a floresta nativa e floresta plantada de araucária.

Através destes dados, pode-se perceber que ao avaliarmos o impacto da mineração de carvão sobre a comunidade micorrízica, há necessidade de adotarmos atributos relacionados à presença destes fungos. Apesar de saber-se que a degradação do solo reflete na diversidade das espécies de FMAs, este atributo nem sempre pode refletir sensivelmente as alterações da qualidade do solo por dois motivos: 1) no caso dos FMAs, os esporos geralmente são tomados como base para identificação, e podem permanecer no solo por longos períodos do ano; 2) esporos e micélio + comportam-se como duas unidades independentes, tornando-se difícil relacionar dados de diversidade à funcionalidade (MORTON, 1993). O potencial de inóculo não pode ser considerado um bom indicador, talvez porque esta é uma medida indireta da atividade dos FMAs. Diferente da colonização micorrízica que mede efetivamente a presença do fungo na planta, pois corresponde a quantidade de hifas intra-radiculares, vesículas e arbúsculos na área radicular.

O uso da colonização das plantas espontâneas como indicador pode ser reforçado pela facilidade e baixo custo de análise, que são duas características importantes para escolher indicadores.

3.4. CONCLUSÕES

- As espécies *P.occultum* e *E.colombiana* apresentaram maior ocorrência nas áreas que passaram por atividade de mineração e foram reconstruídas.
- A presença micorrízica na raiz (colonização e comprimento de micélio extra-radicular) é afetada negativamente pela mineração;
- A ACD indicou a colonização radicular como o principal atributo microbiológico discriminante entre as áreas estudadas.

4. CAPÍTULO 2: CRESCIMENTO DE BRAQUIÁRIAS CO-INOCULADAS COM *Glomus clarum* E RIZOBATÉRIA EM ESTÉRIL DE MINERAÇÃO DE CARVÃO A CÉU ABERTO

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-marandutrês* 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 ($14,2 \text{ ton.ha}^{-1}$), 50% da recomendação: 0,285 kg de calcário por vaso ($28,5 \text{ ton.ha}^{-1}$) e 75% da recomendação: 0,425 kg de calcário por vaso ($42,5 \text{ ton.ha}^{-1}$) 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 $42,7 \text{ ton.ha}^{-1}$ 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

ABSTRACT: 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-arauana* 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 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 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

4.1. 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 (SANCHEZ e FORMOSO, 1990). 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, 2000). 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 endofiticamente, sendo mais comumente isoladas de gramíneas (DÖBEREINER, 1990; REIS e TEIXEIRA, 2004) e fungos micorrizicos arbusculares que são simbioses 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 e BALDANI, 2005; RODRIGUES, 2003). 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 segundo Allen e Allen (1984), os FMAs nativos podem interferir na composição, na competição e na sucessão das comunidades vegetais. A recuperação com fungos micorrízicos arbusculares em área impactada pela mineração esta 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.

4.2. 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-aruaana* 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 - Ab (estudada no capítulo 1), 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, conforme descrito no capítulo 1.

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 colocadas em 500 mL de inóculo de rizobactéria e mantidas 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 à 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 1 mL 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 calcário 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 cortada 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 lavagem, 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 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.

4.3. 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 (Figura 1).

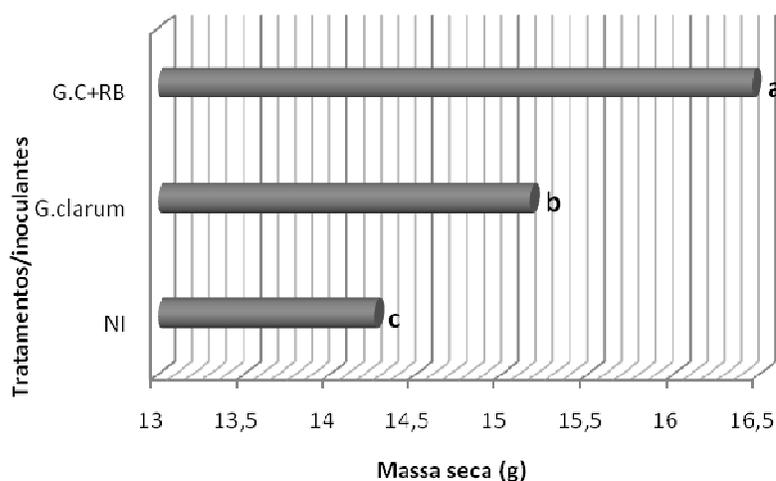


Figura 8. Efeito do inoculo de fungos micorrizicos arbusculares (FMAs) e rizobactérias na produção de massa seca da parte aérea em estéril de mineração de carvão a céu aberto. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Bonferroni a 5% (n=15).

A massa seca da parte aérea das braquiárias variou com a dose de calcário diferentemente para as espécies de braquiária testadas (Tabela 5). 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 5. Massa seca da parte aérea (g) de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-arauana* 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-arauana</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 6).

Tabela 6. Massa seca da raiz (g) de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-arauana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Tratamento	<i>B.brizantha</i>			Média
	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	7,03
<i>G. clarum</i>	6,29 Ba	11,05 Aa	7,10 Bb	8,15
<i>G.clarum</i> + RB	10,22 Aa	9,70 Aa	13,29 Aa	11,07
Média	8,23	9,05	8,97	8,75A
Tratamento	<i>B. maximum-arauana</i>			Média
	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	6,44
<i>G. clarum</i>	5,17 Ba	7,70 ABa	10,48 Aa	7,78
<i>G.clarum</i> + RB	7,95 Aa	11,86 Aa	9,30 Aab	9,7
Média	5,74	9,77	8,41	7,97A
Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>			Média
	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	6,47
<i>G. clarum</i>	8,41 Aa	7,44 Aa	11,07 Aa	8,97
<i>G.clarum</i> + RB	5,43 Aa	7,58 Aa	8,45 Aa	7,15
Média	6,08	6,85	9,67	7,53A

*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 quadro e média em negrito compara as espécies de gramíneas. 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 7).

Na massa seca os tratamentos de fungo e fungo e bactéria não apresentaram diferença significativa e comparando com Russo et al (2007), 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 7. Colonização micorrízica (%) de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-arunana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Tratamento	<i>B.brizantha</i>			Média
	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	22,31
<i>G. clarum</i>	23,2 Ba	38,1 Aa	32,7 Ab	31,34
<i>G.clarum</i> + RB	22,9 Ba	38,1 Ba	45,7 Aa	35,54
Média	20,6	32,4	36,1	29,73A
Tratamento	<i>B. maximum-arunana</i>			Média
	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	25,56
<i>G. clarum</i>	19,36 Ba	39,35 Aa	43,91 Aa	34,21
<i>G.clarum</i> + RB	15,04 Ca	41,05 Aa	32,65 Bb	29,58
Média	18,01	34,63	36,71	29,78A
Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>			Média
	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	27,23
<i>G. clarum</i>	15,63 Ba	42,02 Aa	38,77 Aa	32,14
<i>G.clarum</i> + RB	20,75 Ba	38,33 Aa	41,36 Aa	33,48
Média	18,52	35,32	39,01	30,95A

*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 quadro e média em negrito compara as espécies de gramíneas. 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 8).

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

Tratamento	<i>B.brizantha</i>			Média
	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	9,00
<i>G. clarum</i>	8,65 Ba	10,13 Bb	25,96 Ab	14,91
<i>G.clarum</i> + RB	10,54 Ca	19,68 Ba	52,33 Aa	27,52
Média	7,79	12,14	31,49	17,14A
Tratamento	<i>B. maximum-arauana</i>			Média
	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	4,86
<i>G. clarum</i>	4,66 Ba	5,46 Bb	13,98 Ab	9,72
<i>G.clarum</i> + RB	5,68 Ca	10,60 Ba	28,18 Aa	14,82
Média	3,99	6,54	16,96	9,16A
Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>			Média
	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	6,05
<i>G. clarum</i>	5,82 Bab	6,82 Bb	17,47 Ab	10,04
<i>G.clarum</i> + RB	7,10 Ca	13,25 Ba	35,22 Aa	18,52
Média	5,24	8,17	21,2	11,54A

*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 quadro e média em negrito compara as espécies de gramíneas. 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 fosfata das braquiarias em todas as doses de calcário (Tabela 9).

Tabela 9: Teores de fósforo (P) mg Kg⁻¹, da parte aérea de *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria maximum-arauana* e *B. maximum-marandu* em estéril de mineração de carvão a céu aberto, sob diferentes doses de calcário.

Tratamento	<i>B.brizantha</i>			Média
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹	
N.I.	0,001Bb	0,003Bb	0,005Ab	0,003
<i>G. clarum</i>	0,006Aa	0,007Aa	0,006Aa	0,005
<i>G.clarum</i> + RB	0,003Ab	0,004Ab	0,004Ab	0,003
Média	0,002	0,005	0,005	0,004A
Tratamento	<i>B. maximum-arauana</i>			Média
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹	
N.I.	0,001Bab	0,004Bb	0,008Aa	0,005
<i>G. clarum</i>	0,006Ba	0,003Ab	0,003Aba	0,003
<i>G.clarum</i> + RB	0,003Bb	0,006Aa	0,004Ba	0,004
Média	0,002	0,004	0,005	0,004A
Tratamento	<i>B. maximum-marandu</i>			Média
	14,2 ton.ha ⁻¹	28,5 ton.ha ⁻¹	42,7 ton.ha ⁻¹	
N.I.	0,001Bb	0,003ABb	0,004Ab	0,003
<i>G. clarum</i>	0,006Ba	0,007Ba	0,008Aa	0,007
<i>G.clarum</i> + RB	0,002Bb	0,003Aa	0,006Bb	0,004
Média	0,003	0,004	0,006	0,005A

*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 quadro e média em negrito compara as espécies de gramíneas. 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 Siqueira *et al.* (1986) e 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 gênero *Glomus* apresentou melhor desempenho em solo ácido, aumentando a colonização micorrizica 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 e 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 presença 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.

4.4. 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;

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A ocorrência e a diversidade de FMAs foram afetadas pela atividade de mineração de carvão. Apesar dos índices DE DIVERSIDADE apresentarem-se baixos, eles apontam para a necessidade da inoculação de FMAS nestas áreas se pensarmos em aproveitar o benefício desta simbiose na revegetação de áreas degradadas pela mineração de carvão. Os resultados obtidos podem ser utilizados para a futura produção de inóculo, bem como para o manejo destas áreas a serem recuperadas; A co-inoculação com FMAs e rizobactérias teve efeito significativo na promoção do crescimento das braquiárias que são comumente usadas na revegetação de áreas com estéril de mineração a céu aberto. Além disso a calagem demonstrou ser importante fator a ser associado em estratégias de inoculação microbiana c

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, P. Aspectos ecológicos de populações de fungos micorrízicos arbusculares em reflorestamentos e em mata nativa de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. Lages, SC, UDESC, 2003. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo).

ALEXANDRE, N. Z.; KREBS, A. S. J. Qualidade das águas superficiais do município de Criciúma, SC. Porto Alegre, RS: v. 6, CPRM, 1995.

ALFARO VILATORO, M. A. Matéria orgânica e indicadores microbiológicos da qualidade do solo na cultura de café sob manejo agroflorestal e orgânico. Tese de doutorado, UFRRJ, 2004. 178p.

ALLEN, E.B.; ALLEN, M.F. Competition between plants of different successional stages: mycorrhizae as regulators. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.62, p.2625-2629, 1984.

AMES, R.N.; REID, C.P.; PORTER, L.K. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *The New Phytologist*, 95(3):381-396, 1983.

AMMAS, K. M.; AGERON, E.; GRIMONT, P. A. D. et al. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. *Research in Microbiology*, Paris, v. 140, p. 679-693, 1989.

AZCÓN -AGUILAR, C.; PALENZUELA, J.; ROLDÁN, A.; BAUTISTA, S.; VALLEJO, R e BAREA, J.M. Analisis of the mycorrhizae potential in rizosphere of representative plant species from desertification-threatened Mediterranean shrublands. *Appl. Soil Ecology*. 22:29-37, 2003.

BALDANI, V. L. Protocolo para a análise da qualidade e eficiência agrônômica 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).

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 Science Society America, 1982. p.37-56.

BASHAN, Y. e HOLGUIN, G. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Can. J. Microbiol.*, n. 43, p. 103-121, 1997.

BERGAMASCHI, C. Ocorrência de bactérias diazotróficas associadas a raízes e colmos de cultivares de sorgo. 2006. 83 p. Dissertação (Mestrado-Microbiologia Agrícola e do

Ambiente) – Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal Rural do Rio Grande do Sul, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional da Produção Mineral. Perfil analítico do carvão. 2.ed. Porto Alegre, 1987. 140p. (Boletim, 6)

BROWER, J. E e ZAR, H.J. Field and laboratory methods for general Ecology. Dubuque, Iowa, 1984.

BRUNDRETT, M.C., ASHWATH, N.; JASPER, S.A. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. II. Propagules of mycorrhizal fungi in disturbed habitats. *Plant and Soil*. 184:173-184. 1996.

BUGIN, A. Introdução à recuperação de áreas degradadas. In: TEIXEIRA, E. C., PIRES, M. J. R. (coord). Meio ambiente e carvão - Impactos da exploração e utilização. Porto Alegre, FINEP/CAPES/PADCT/GTM/PUCRS/FEPAM, 2002. p.93-98.

BURDMAN, S.; JURKEVITCH, E.; SCHWARTSBURD, B. et al. Aggregation in *Azospirillum brasilense*: effects of chemical and physical factors and involvement of extracellular components. *Microbiology*, n. 144, p. 1989-1999, 1998.

BURKERT, B., Robson, A.D. Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. *Soil Biology e Biochemistry* 26, 1117– 1124, 1994.

BUSSLER, B. H. Properties of minesoil reclaimed for Forest land use. *Soil Sci.Soc.Am.J.* 48:178-184, 1984.

CALGARO, H. F., VALÉRIO FILHO, W.V., AQUINO, S.S., MALTONI, K.L. e CASSIOLATO, A.M.R. Adubação química e orgânica na recuperação da fertilidade de subsolo degradado e na micorrização do *Stryphnodendron polyphyllum*, R. Bras. Ci. Solo, 32:1337-1347, 2008.

CAMPOS, M. L., ALMEIDA, J. A, SOUZA, L. S. Avaliação de três áreas de solo construído após mineração de carvão a céu aberto em Lauro Muller, Santa Catarina. *Rev. Bras. Ci. Solo*, v.27, p.1123-1137, 2003.

CAMPOS, M.L. Caracterização de três áreas de solo reconstruído após mineração de carvão a céu aberto em Lauro Müller, SC. 2000. 62 p. (Dissertação de Mestrado em Agronomia) - Curso de Pós-Graduação em Agronomia - CAV/UEDESC. Lages, SC.

CAPRONI, A.L.; FRANCO, A.A.; BERBARA, R.L.L.; TRUFFEM, S.B.; GRANHA, J.R.D.O. E MONTEIRO, A.B. Ocorrência de fungos micorrizicos arbusculares em áreas revegetadas após a mineração de bauxita em Porto de Trombetas, Pará. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38:1409-1418, 2003.

CARDOSO, E. J. B.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. Microbiologia do solo. Campinas: SBCS, 1992. 306 p.

CARIS, C.; HORDT, W.; HAWKINS, H.J.; ROMHELD, V. e GEORGE, E. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza*, 8:35-39, 1998.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solos com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36:1443-1452, 2001

CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL (2002) IMPACTOS AMBIENTAIS NOS RECURSOS HÍDRICOS DA EXPLORAÇÃO DE CARVÃO EM SANTA CATARINA. Rio de Janeiro, 4p Disponível em: www.cetem.gov.br
CETEM. Centro de Tecnologia Mineral. Projeto conceitual para recuperação ambiental da bacia carbonífera sul catarinense. 2 cd. Relatório técnico elaborado para o SIESESC. 2001.v. 1.p.33-51.

CHANWAY, C. P.; TURKINGTON, R.; HOLL. F. B. Ecological implications of specificity between plants and rhizosphere microorganisms. *Advances in Ecological Research*, v.21, p.121-169, 1991.

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. *Environmental Pollution* 147: 374-380, 2007.

CHEN, B.D.; LI, X.L.; TAO, H.Q.; CHRISTIE, P.; WONG, M.H. The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. *Chemosphere*, 50:839-846, 2003.

CHEN, B., TANG, X., ZHU, Y. e CHRISTIE, P. Metal concentrations and mycorrhizal status of plants colonizing copper mine tailings: potential for revegetation. *Science in China Ser.* 48:156-164, 2005.

CHI, R.; XIAO, C. e GAO, H. [Bioleaching of phosphorus from rock phosphate containing pyrites by *Acidithiobacillus ferrooxidans*](#). *Minerals Engineering*, 19: 979-98, 2006.

CHRISTIE, P.; LI, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. *Plant and Soil*, 261:209-217, 2004.

CLARK, R.B.; ZETO, S.K.; ZOBEL. Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of *Panicum virgatum* in acidic soil. *Soil Biology and Biochemistry*, v.31, p.1757-1763, 1999.

CONAMA. Conselho nacional do Meio ambiente, Resolução N° 20, M.D.U. de 18 de Junho de 1986 – Diário Oficial de 30.07.86.

COOK, B. G.; PENGELLY, B. C.; BROWN, S. D.; DONNELLY, J. L.; EAGLES, D. A.; FRANCO, M. A.; HANSON, J.; MULLEN, B. F.; PARTRIDGE, I. J.; PETERS, M.; SCHULTZE-KRAFT, R. Tropical Forages: an interactive selection tool. Brisbane: CSIRO: DPI&F(Qld): CIAT: ILRI, 2005. CDROM

COOPER, K.M. e TINKER, P.B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. *New Phytol.*, 81:43-52, 1978.

CORBETT, E.A., ANDERSON, R.C. e RODGERS, C.S. Prairie revegetation of a strip mine in Illinois: fifteen years after establishment. *Restoration Ecology*, 4:346-354, 1996.

CORREIA, D. S. Fauna edáfica como indicadora de recuperação de áreas degradadas por mineração de carvão. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias / UDESC Lages, 2010.60 p.

CRM - Companhia Riograndense de Mineração, Capturado na Internet em 10 de Julho de 2009, Disponível em: <http://www.crm.rs.gov.br/>

CUENCA, G.; ANDRADE, Z.; ESCALANTE, G. Diversity of glomalean spores from natural, disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. *Soil Biology e Biochemistry*, Ottawa, v. 30, 6:711-719, 1998.

CUNNINGHAM, S. D., T. A. ANDERSON, A. P. SCHWAB Y F. C. HSU. 1996. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.* 56: 55-114.

DANIELS, W.L. Manipulating the chemical properties of soil and mining wastes. In: ALVAREZ V., V.H.; FONTES, L.E.F. e FONTES, M.P.F., eds. *O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentado*. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1996. p.869-897.

DAVIDSON, R.L. Trace elements in fly ash-dependence of concentration on particle size. *Environmental Science technology*, v.8, p. 1107-1113, 1996.

DEKHIL, S. B.; CAHILL, M.; STACKEBRANDT, E.; SLY, L. I. Transfer of *Conglomeromonas largimobilis* subsp. *largimobilis* to the Genus *Azospirillum* as *Azospirillum largimobile* comb. nov., and elevation of *Conglomeromonas largimobilis* subsp. *Parooensis* to the new type species of *Conglomeromonas*, *Conglomeromonas parooensis* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, Stuttgart, v. 20, p. 72-77, 1997.

DIAS L.E.; GRIFFITH, J.J. Conceituação e caracterização de áreas degradadas. In: DIAS, L.E.; MELLO, J.W.V. *Recuperação de áreas degradadas*. Viçosa: UFV, 1998. p.1-7.
DIAS-JÚNIOR, H. E., MOREIRA, F. M. S., SIQUEIRA, J. O. e SILVA, R. Metais pesados, densidade e atividade microbiana em solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. *R. Bras. Ci. Solo*, 22:631-640, 1998.

DICK, R.P. Soil enzyme activities indicators of soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDICEK, D.F.; STEWART, B.A. (Ed.). *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p.107-124

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.

DORAN, J.W.; Zeiss, M.R. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 15:3-11.

DUNGER, W. The return of soil fauna to coal mined areas in the German Democratic Republic. In: MAJER, J.D. (Ed.) *Animals in Primary Succession. The role of Fauna in reclaimed Lands*. Cambridge University Press: New York, pp. 307-337, 1989.

ECKERT, B.; WEBER, O. B.; KIRCHHOF, G. et al. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, Washington, v. 51, p. 17-26, 2001.

ENKUTUKA, B. e VOSÁTKA, M. Interaction between Grass and trees mediated by extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Symbiosis*, 38: 261-277, 2005.

EVANGELOU, V. P.; GROVE, J. H.; RAWLINGS, F. D. Rates of iron sulfide oxidation in coal spoil suspensions. *J. Environ. Qual.*, Madison, v.14, p.91-94, 1985.

FOLEY, J.A., DEFRIES, R., ASNER, G.P., BARFORD, C., BONAN, G., CARPENTER, S.R., CHAPIN, F.S., COE, M.T., DAILY, G.C, GIBBS, H.K., HELKOWSKI, J.H., HOLLOWAY, T., HOWARD, E.A., KUCHARIK, C.J., MONFREDA, C., PATZ, J.A., PRENTICE, I.C., RAMANKUTTY, N. e SNUNER, P.K. Global consequences of land use. *Science*, 309: 570-574, 2005.

FREITAS, S. S. e VILDOSO, C. I. A. Rizobactérias e promoção de crescimento de plantas cítricas. *Rev. Bras. Ciên. Solo*, v. 28, p. 987-994, 2004.

FRICK, C. M., R. E. FARRELL y J. J. GERMIDA. Assessment of phytoremediation as an in situ technique for cleaning oil-contaminated sites. *Petroleum Technology Alliance of Canada*. Vancouver, British Columbia, 1999.

GAIVIZZO, L. H. B.; VIDOR, C.; TEDESCO M. J.; MEURER; E. Potencial poluidor de rejeitos carboníferos. I - Caracterização química da água de lixiviação. *Ciência Rural*, v.32, n.5, p.771-780, 2002.

GARDNER, J.H.; MALAJCZUK, N. Recolonization of rehabilitation bauxite mine sites in Western Australia by mycorrhizal fungi. *For. Ecology Management*. 24: 27-42, 2003.

GASSEN, D. N.; GASSEN, F. R. Semeadura direta. *Passo Fundo: Aldeia Norte*, 1996. 207 p.

GAUR, A. e ADHOLEYA, A. Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, 86:528-534, 2004.

GIOVANNETTI, M. e MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84:489-500,1980.

GORANSSON, P., OLSSON, P.A., POSTMA, J. e FALKENGREN-GRERUP, U. Colonisation by arbuscular mycorrhizal and fine endophytic fungi in four woodland grasses – variation in relation to pH and aluminium. *Soil Biology e Biochemistry* 40:2260–2265, 2008.

GRANDLIC, C.J.; MENDEZ, M.O.; CHOROVER, J.; MACHADO, B.; MAIER, R.M. Plant growth-promoting bacteria for phytostabilization of mine tailings. *Environmental Science and Technology* 42:2079-2084, 2008.

GRANDLIC, C.J.; PALMER, M.W.; MAIER, R.M. Optimizing of plant growth-promotion bacteria-assisted phytostabilization of mine tailings. *Soil Biology and Biochemistry* 41:1734-1740, 2009.

GREGORICH, E.G.; CARTER, M.R.; ANGERS, D.A.; MONREAL, C.M. e ELLERT, B.H. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. In: *Canadian Journal of Soil Science*, 1994.

GUEBERT, M.D.; GARDNER, T.W. Macropore flow on a reclaimed surface mine: infiltration and hillslope hydrology. *Geomorphology*, v.39, p.151-169, 2001.

INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu>)

IPAT-UNESC. Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas – Universidade do Extremo Sul Catarinense. Pesquisa e desenvolvimento de metodologias para o controle de drenagem ácida e tratamento de efluentes da indústria carbonífera. Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas - IPAT. Relatório técnico. Criciúma, 184p. 2000.____Desenvolvimento de métodos de tratamento de drenagem ácida de minas de carvão. Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas – Universidade do Extremo Sul Catarinense. Relatório técnico. Criciúma, 90p. 2001.____Diagnóstico Ambiental Mina Malha II Leste – Santa Catarina. Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas - Universidade do Extremo Sul Catarinense. Relatório técnico. Criciúma, 121p. 2002a.____Projeto Reabilitação Ambiental de Áreas Degradadas pela extração de carvão mineral Campo Morozini Treviso – Santa Catarina. Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas – Universidade do Extremo Sul Catarinense. Relatório técnico. Criciúma, 82p. 2003b.

JASPER, D. A.; ABBOTT, L. K.; ROBSON, A. D. Soil disturbance in native ecosystems the decline and recovery of infectivity of VA mycorrhizal fungi. In: READ, D. J.; LEWIS, D. H.; FITTER, A. H.; ALEXANDER, L. J. (Ed.). **Mycorrhizas in ecosystems**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 151-155.

JOHNSON, R. A; WICHERN, D. W. *Applied Multivariate Statistical Analysis*. 5ª ed. Prentice Hall, 2002

JUWARKAR, A.A., KIRTI, A.N., DUBEY, S.K. e SINGH, S.D. Biosurfactant technology for remediation of cadmium and lead contaminated soils. *Chemosphere*, 2007.

JUWARKAR, A.A., YADAV, P.R., KUMAR, P.R.T.P., SINGH, S.K. E CHAKRABARTI, T. Developmental strategies for sustainable ecosystem on mine spoil dumps: a case of study. [Environmental Monitoring and Assessment](#) Volume 157: 471-481, 2009.

KARDOL, T. P., BEZEMER, M. e VAN DER PUTTEN, W.H. Soil Organism and Plant Introductions in Restoration of Species-Rich Grassland Communities. *Restoration Ecology* 17:258–269, 2009.

KELLY, C. N., MORTON, J. B. e CUMMING, J. R. Variation in aluminum resistance among arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 15: 193–201, 2005.

KIERNAN, J. M.; HENDRIX, J. W.; MARONEK, D. M. Endomycorrhizal fungi occurring on orphan strip mines in Kentucky. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 61, n. 6, p. 1798-1803, June 1983.

KLAUBER-FILHO, O. Ecologia e atividade de fungos micorrizicos arbusculares em solo poluído com metais pesados. UFLA, 1999 (Tese de Doutorado) p. 161.

KLAUBER-FILHO, O., SIQUEIRA, J.O. e MOREIRA, F.M.S. Fungos micorrizicos arbusculares em solos de área poluída com metais pesados. *R.Bras.Ci.Solo*, 26:125-134, 2002.

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

KOPEZINSKI, I. *Mineração x Meio Ambiente: Considerações Legais, Principais Impactos Ambientais e seus Processos Modificadores*, Porto Alegre: Ed. Universidade/ UFRGS, 2000, 103 p.

KOPPE, J.C.; COSTA, J.F.C. *Mineração*. In: TEXEIRA, E. C (Coord.). *Meio ambiente e carvão: impactos da exploração e utilização*. Porto Alegre, RS: FEPAM, 2002.p.15-27.

KOSKE, R.E. e GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, 92:486-505, 1989.

LI, X.; GEORGE, E.; MARSCHNER, H. Phosphorus depletion and pH decrease at the root - soil and hyphae soil interfaces of VA mycorrhizal white clover fertilized with ammonium. *New Phytologist*, Cambridge 119:397-404, 1991.

LOPES, M.A.R. *Código Civil*. 5. Ed. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2000.69p.

LOPES, R.H.Z. *Ações do IBAMA na recuperação de áreas degradadas*. In: DIAS, L.E. e MELLO, J.W.V. *Recuperação de áreas degradadas*. Viçosa-MG. Universidade Federal de Viçosa, 1998. p. 247-251.

LUNARDI NETO, A., *Métodos para reabilitação de solo reconstruído após mineração de carvão*. 2006. 6,7,8 p. Dissertação de mestrado, (Mestrado em Ciência do Solo) - Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, 2003.

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.

MAGALHÃES, F. M.; BALDANI, J. I.; SOUTO, S. M. et al. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. An Acad. Bras. Cienc., Rio de Janeiro, v. 55, p. 417-430, 1983.

MARTINS, C.R., MIRANDA, J.C.C E MIRANDA, L.N. Contribuição de fungos micorrízicos arbusculares nativos no estabelecimento de *Aristida setifolia* kunth em áreas degradadas do cerrado. Pesq. agropec. bras., Brasília, 34: 665-674,1999.

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 Pesquisas Florestais do Paraná 1992. p.440-445.

MATSUDA, A.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Tolerância de rizóbios de diferentes procedências ao zinco, cobre e cádmio. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 37, n. 3, p. 343-355, 2002.

McSWEENEY, K. e JANSEN, I.J. Soil structure and associated rooting behavior in minesoils. Soil Sci. Soc. Am. J., 48:607- 612, 1984.

MEHNAZ, S.; WESELOWSKI, B.; LAZAROVITS, G. *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., v. 57, p. 620-624, 2007.

MEHROTRA, V. S. Arbuscular mycorrhizal associations of plants colonizing coal mine spoil in India. Journal of Agricultural Science, Cambridge 130:125-133, 1998.

MELLONI, R. Quantificação de micélio extrarradicular de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cítricas. ESALQ, 1996. p. 83 (Dissertação de mestrado)

MELLONI, R.; SIQUEIRA, J.O. e MORREIRA, F.M.S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. Pesq. Agropec. Bras. 38: 267-276, 2003.

MENDONÇA, D. Características biológicas indicadoras de recuperação da qualidade de um solo reconstruído após mineração de carvão a céu aberto com adição de calcário e esterco animais. Lages, SC, UDESC, 2002. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo).

MILLER, R.M., JASTROW, J.D. Hierarchy of root and mycorrhizal fungi interactions with soil aggregation. Soil Biology and Biochemistry, 22 (5): 579-584, 1990.

MOORMAN, T., REEVES, F. B. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid West. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. Am J Bot 66:14-18, 1979.

MOREIRA, F.M.S. e SIQUEIRA, J.O. Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras: UFLA, 2002. 626p.

MOREIRA, F.M.S.; LANGE, A.; KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J.O.; NÓBREGA, R.S.A.; LIMA, A.S. associative daizotrophic bactéria in Grass roots and soils from heavy

metal contaminated sites. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 80(4): 749-761, 2008.

MOREIRA, M., BARETTA, D., TSAI, S.M., GOMES-DA-COSTA, S.M., CARDOSO, E.J.B.N. Biodiversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in *araucaria angustifolia* forest. *Sci. Agric.* 64: 393-399, 2007.

MOREIRA, M., BATRETTA, D., TASAI, S.M. e CARDOSO, E.J.B.N. Arbuscular mycorrhizal fungal communities in native and in replanted *araucaria* forest. *Sci.Agric.* 66:677-684, 2009.

MORTON, J.B. Problems and solutions for the integration of glomalean taxonomy, systematic biology, and the study of endomycorrhizal phenomena. *Mycorrhiza*, 2: 97- 109, 1993.

MOSES, C.O.; NORDSTROM, D.K.; HERMAN, J.S. e MILLS, A.L. Aqueous pyrite oxidation by dissolved oxygen and by ferric iron. *Geoch. Cosmoch. Acta*, 51:1561-1571, 1987.

MOYNAHAN, O. S., ZABINSKI, C.A. e GANNON, E.J. Microbial community structure and carbon: utilization diversity in a mine tailings revegetation study. *Restoration Ecology* 10: 77-87, 2002

NAKATANI, A.S.; SIQUEIRA, J.O.; SOARES, C.R.F.S. Densidade, atividade e estrutura da comunidade microbiana rizosférica e fungos micorrízicos arbusculares em solo de "landfaming" de resíduos petroquímicos. *R. Bras. Ci. Solo*, 2007.

NASCIMENTO, F. M. F.; MENDONÇA, R. M. G.; MACÊDO, M. I. F.; Soares, P.S. M.; Resumos do I Congresso Brasileiro de Mina a Céu Aberto e II Congresso Brasileiro de Mina Subterrânea, Belo Horizonte, Brasil, 2002.

NELSON, L. M. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. *Crop Management*, Online, mar. 2004. Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria/>> Acesso em: 10 out. 2008.

NOGUEIRA, M.A.; MAGALHÃES, G.C.; CARDOSO, E.J.B.N. Manganese toxicity in mycorrhizal and phosphorus-fertilized soybean plants. *Journal of Plant Nutrition*, v.27, p.141-156, 2004.

NORDSTROM, D.K. Aqueous pyrite oxidation and the consequent formation of secondary iron mineral. In : KITTRICK, J. A.; FANNING, D. S. e HOSSNER, L. R., eds. *Acid sulfate weathering*. Madison, Soil Science Society America, 1982. p.37-56.

NUNES, M. C. D. Condições físicas de solos construídos na área de mineração de carvão de Candiota-RS. Pelotas-RS, 2002. 130f. Dissertação (Mestrado em Solos). Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - Universidade Federal de Pelotas, 2002.

O'SHAY, T., HOSSNER, L.R. e DIXON, J.B. A modified hydrogen peroxide oxidation method for determination of potential acidity in pyritic overburden. *J. environ. Qual.*, 19:778-782, 1990.

OLIVEIRA, A. L. M. de; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. Processos e mecanismos envolvidos na influência de microrganismos sobre o crescimento vegetal. Seropédica: CNPAB, ago. 2003. 40 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 161).

ORLOWSKA, E.; RYSZKA, P.; JURKIEWICZ, A.; TURNAU, K. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) strains in colonization of plants involved in phytostabilisation of zinc wastes. *Geoderma*, 129:92-98, 2005.

ORTIZ, L.; TEIXEIRA, E. C. Influência das atividades de processamento do carvão sobre a qualidade dos recursos hídricos superficiais. In: Meio Ambiente e Carvão: impactos da exploração e utilização. Porto Alegre: FINEP/CAPES/PADCT/GTM/PUCRS/UFSC/FEPAM, 2002. p. 301-340.

PAULA, A.M.P., SOARES, C. R. F. S. E SIQUEIRA, J.O. Biomassa, atividade microbiana e fungos micorrízicos em solo de "landfarming" de resíduos petroquímicos. *R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental*, 10: 448-455, 2006.

PAWLOWSKA, T.E., BLAZSKOWSKI, J., RÚHLING, A. The mycorrhizal status of plant colonizing a calamine spoil mound in southern Poland. *Mycorrhiza* 6:499-505, 1996.

PENG, G.; WANG, H.; ZHANG, G.; et al. *Azospirillum melinis* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass. *Int J Syst Evol Microbiol*, v. 56, p. 1263-1271, 2006.

PERRIG, D.; BOIERO, M. L.; MASCIARELLI, O. A. et al. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Appl Microbiol Biotechnol*, n. 75, p. 1143-1150, 2007.

PFLEGER, F.L., STEWART, E.L., NOYD, R.K. Role of VAM fungi in mine land revegetation. In: Pflieger, F.L., Lenderman, R.G. (Eds.) *Mycorrhizal and Plant Health. Symposium Series*. pp. 47-82. 1994.

PINTO, L. F. S.; KÂMPF, N. Contaminação dos solos construídos. In: TEIXEIRA, E. C. (Coord). Meio ambiente e carvão: impactos da exploração e utilização. Porto Alegre, RS: FEPAM, 2002. P.69-92.

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.

PIRES DA SILVA, A.; IMHOFF, S.; GIAROLA, N.F.B.; ROMENA, C.A. Análisis multivariado y univariado en la discriminación de sistemas de uso de suelos del centro de Santa Fe. *Edafología*, 8: 21-34, 2001.

POSADA R.H.,FRANCO, L.A., RAMOS, C., PLAZAS, L.S., SUARE, J.C. e ALVAREZ F. Effect of physical, chemical and environmental characteristics on arbuscular mycorrhizal fungi in *Brachiariadecumbens* (Stapf) pastures. *Journal of Applied Microbiology* 104: 132–140, 2008.

POTTER, C.S.; BROOKS, V. Global analysis of empirical relations between annual climate and seasonality of NDVI. *International Journal of Remote Sensing*, v.19, n.15, p. 2921-2948, 1998.

PUNAMIYA, P., DATTA, R., SARKAR,D. BARBER, S., PATEL, M. e DAS. P. Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)] *Journal of Hazardous Materials* 177: 465–474, 2010..

PURIN, S. Fungos micorrízicos arbusculares: atividade, diversidade e aspectos funcionais em sistemas de produção de maçã. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias / UDESC Lages, 2005.152 p.

RAMAN, N.; NAGARAJAN, N.; GOPINATAN, E e SAMBANDAN, K. Mycorrhizal status of plant species colonizing a magnesite mine spoil in India. *Biol. Fert. Soils*, 16: 76-78, 1993.

RAMAN, N.; NAGARAJAN, N.; GOPINATHAN, S.; SAMBANDAN, K. Mycorrhizal status of plant species colonizing a magnesite mine spoil in India. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 16, n. 1, p. 76-78, 1993.

REDON, P.O., BEQUIRISTAIN, T. e LEYVAL,C. Differential effects of AM fungal isolates on *Medicago truncatula* growth and metal uptake in a multimetallic (Cd, Zn, Pb) contaminated agricultural soil. [Mycorrhiza](#) 19:187-195, 2008.

REGVAR, M., VOGEL-MIKUS, K., KUGONI. N., TURK, B., FRANC BATI, F. Vegetational and mycorrhizal successions at a metal polluted site: Indications for the direction of phytostabilisation? *Environmental Pollution* 144: 976-984, 2006.

REINHOLD, B.; HUREK, T.; FENDRIK, I.; et al. *Azospirillum halopraeferans* sp. nov., a nitrogen fixing organism associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunt.). *International Journal of Systematic Bacteriology*, Washington, v. 37, p. 43-51, 1987.

REIS, V. M. e TEIXEIRA, K. R. dos S. Fixação biológica do nitrogênio – Estado da arte. In: AQUINO, A. M. de e ASSIS, R. L. de (Ed.) *Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 368 p.

REIS, V.M., PAULA, M.A e DOBEREINER, J. Ocorrência de micorrizas arbusculares e da bactéria diazotrófica *acetobacter diazotrophicus* em cana-de-açúcar. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 34:1933-1941,1999.

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.

RILLING, C. M. e MUMMEY, D. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol.*, 171: 41-53, 2006.

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.

RYDLOVÁ, J. e VOSÁTKA, M. Effect of *Glomus intraradices* isolated from pb-contaminated soil on Pb uptake by *Agrostis Capillaris* is changed by its cultivation in a metal-free substrate. *Folia Geobotanica* 38: 155–165, 2003

RYSZKA, P. e TURNAU, K. Arbuscular mycorrhiza of introduced and native grasses colonizing zinc wastes: implications for restoration practices. *Plant Soil* 298:219–229, 2007.

SANCHES, J.C.D. e FORMOSO, M.L.L. Utilização do carvão e meio ambiente. *Boletim Técnico*. Porto Alegre, n20, 34p, 1990.

SANDERS, I.R.; CLAPP, J.P.; WIEMKEN, A. The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystems - a key to understanding the ecology and functioning of the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, v.133, p.123-134, 1996.

SCHNEIDER, P., KÄMPF, N., GIASSON, E. Solos. In: *Carvão e Meio Ambiente*. Centro de Ecologia da UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2000. p.45-76

SEMC – Secretaria de Energia, Minas e Comunicação do Estado do Rio Grande do Sul, Capturado em 10 de setembro de 2009, Online, Disponível na Internet: <http://www.semc.rs.gov.br/>

SILVA, G.A., TRUFEM, S.F.B., SAGGIN-JÚNIOR, O.J. e MAIA, L.C. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. *Mycorrhiza* 15:47–53, 2005.

SILVA, G.A.S., MAIA, L.C., SILVA, F.S.B e LIMA, P.C.F. Potencial de infectividade de fungos micorrízicos arbusculares oriundos de área de caatinga nativa e degradada por mineração, no Estado da Bahia, Brasil. *Revta brasil. Bot.* 24:135-143, 1997.

SILVEIRA, A.P.D. Micorrizas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. (eds.) *Microbiologia do Solo*. Campinas, Sociedade Brasileira Ciência Solo, p.258-282. 1992.

SINGH R.N.; GRUBE Jr., W.E.; SMITH, R.M. e KEEFER, R.F. Relation of pyritic sandstone weathering to soil and minesoil properties. In: KITTRICK, J.A.; FANNING, D.S. e HOSSNER, L.R., eds. *Acid sulfate weathering*. Madison, Soil Science Society America, 1982. p.193-208

SIQUEIRA, J.O. Micorrizas arbusculares. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. eds. *Microrganismo de importância agrícola*. Brasília, EMBRAPA - SPI, 155 - 194, 1994.

SIQUEIRA, J.O., MAHMUD, A.W., HUBBELL, D.H. Comportamento diferenciado de fungos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares em relação à acidez do solo. R Bras Ci Solo, Campinas, v. 10, p. 11-16, 1986

SIQUEIRA, J.O.; ACCIOLY, A.M.A. Contaminação química e biorremediação do solo. Tópicos em ciência do solo, Vol I, 2000.

SIQUEIRA, J.O.; POUYÚ, E.; MOREIRA, F.M.S. Micorrizas arbusculares no crescimento pós-transplante de mudas de árvores em solo com excesso de metais pesados. R. Bras. Ci. Solo, 23:569-580, 1999.

SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press, 1997. 589p

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

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

STÜRMER, S.L.; SIQUEIRA, J.O. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazilian ecosystems. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems. Wallingford: CABIPub., 2006. p.206-236.

SUDOVA, R., DOUBKOVA, P. e VOSATKA. M. Mycorrhizal association of *Agrostis capillaris* and *Glomus intraradices* under heavy metal stress: Combination of plant clones and fungal isolates from contaminated and uncontaminated substrates. Applied Soil ecology 40:19 – 29, 2008.

TAHERI, W.I. E BEVER, J.D. Adaptation of plants and arbuscular mycorrhizal fungi to coal tailings in Indiana. Applied Soil Ecology, 2010.

TAYLOR, R.W., IBEABUCHI, I.O., SISTANI, K.R. *et al.* Accumulation of some metals by legumes and their extractability from acid mine spoils. Journal of VIDOR, C. Rejeitos de minas de carvão. In: TEDESCO, M.J., GIANELLO, C. Utilização de resíduos. Porto Alegre: UFRGS, 1996. p.114-132.

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

TEIXEIRA, K. R. dos S. Bases moleculares da fixação biológica do nitrogênio. Seropédica: Embrapa – CNPAB, 1997. 26 p. (Embrapa – CNPAB. Documentos, 32).

TILMAN, D., REICH, P.B., KNOPS, J., WEDIN, D., MIELKE, T. e LEHMAN, C. Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. Science, 249: 843-845, 2001.

TRINDADE A. V., GRAZZIOTTI P. H. e TÓTOLA M. R. Utilização de características microbiológicas na avaliação da degradação ou recuperação de uma área sob mineração de ferro. R. Bras. Ci. Solo, 24:683-688, 2000.

VAN BREEMEN, N. van. Genesis, morphology, and classification of acid sulfate soil in coast plains. In: KITTRICK, J.A.; FANNING, D.S. e HOSSNER, L.R., eds. Acid sulfate weathering. Madison, Soil Science Society America, 1982. p.37-56.

VAN ELSAS, J. O.; TREVORS, J. T. e WELLINGTON, E. M. H. Modern Soil Microbiology. Marcel Dekker, Inc. New York. 1997, 712p.

VOGEL-MIKUS, K., DROBNE, D. e REGVAR, M. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. Environmental Pollution 133:233-242, 2005.

WALLAND, M. E.; ALLEN, E. B. Relationships between VA mycorrhizal fungi and plant cover following surface mining in Wyoming. Journal of Range Management, Denver, v. 40, n. 3, p. 271-276, May 1987.

WEIERSBYE, I.M., STRAKE, R. C.J. e PRZYBYLOWICZ, W.J. Micro-PIXE mapping of elemental distribution in arbuscular mycorrhizal roots of the grass, *Cynodon dactylon*, from gold and uranium mine tailings. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 158:335-343, 1999.

WILDE P., Manal A, Stodden M, Sieverding E, Hilderbrandt U, Bothe . Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in roots and soils of two salt marshes. Environmental Microbiology 2009;11:1548-1561.

WONG, M.H. ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. Chemosphere, v. 50, p. 775-780, 2003.

WU, T.; HAO, W.; LIN, X. e SHI, Y. Screening of arbuscular mycorrhizal fungi for vegetation of eroded red soils in subtropical China. Plant Soil, 239: 225-235, 2002.

XIE, C. H. e YOKOTA, A. *Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. Int J Syst Evol Microbiol, v. 55, p. 1435-1438, 2005.

ZOCCHÉ, J. J. Comunidades Vegetais de Campo e sua Relação com Concentração de Metais Pesados no Solo em Áreas de Mineração de Carvão a Céu Aberto, na Mina do Recreio - Butia - RS. 1989. 159 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Curso de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1989.

ZOCCHÉ, J. J. Comunidades Vegetais de Savana Sobre Estruturas Mineralizadas de Cobre na Mina Volta Grande, Lavras do Sul, RS. 2002. 205 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.