



**Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Instituto de Florestas
Curso de Graduação em Engenharia Florestal**

ODUVALDO GONÇALVES DE OLIVEIRA FILHO

SELEÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES PARA *Mimosa velloziana* MART. EM SUBSTRATOS DA MINERAÇÃO DE FERRO

Prof. Dr. Sérgio Miana de Faria
Orientador

**Seropédica-RJ
Julho, 2010**



**Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Instituto de Florestas
Curso de Graduação em Engenharia Florestal**

ODUVALDO GONÇALVES DE OLIVEIRA FILHO

Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para *Mimosa vellosiana* MART. em substratos da mineração de ferro

Monografia apresentada ao curso de Engenharia Florestal, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Florestal, Instituto de Florestas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRRJ.

Prof. Dr.Sérgio Miana de Faria
Orientador

**Seropédica-RJ
Julho, 2010**

Seleção de fungos micorrízicos arbusculares para *Mimosa velloziana* MART. em substratos da mineração de ferro

Comissão Examinadora

Aprovada em 15 de Julho de 2010

Prof. Dr. Sérgio Miana de Faria, Ph. D.
Embrapa Agrobiologia.
(Orientador)

Prof. Dr. Guilherme Montandon Chaer, Ph. D.
Embrapa Agrobiologia.
(Membro)

Prof. Dr. Orivaldo José Saggin-Júnior, Ph. D.
Embrapa Agrobiologia.
(Membro)

RESUMO

A mineração de ferro representa uma importante atividade para o desenvolvimento econômico do país, porém, sua execução tem como consequência sérios impactos ambientais, como a retirada da vegetação e da camada superficial do solo. Essas áreas precisam ser recuperadas de forma a amenizar o passivo ambiental gerado pela atividade da mineradora. O uso de leguminosas associadas a bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares pode ser uma maneira eficiente e de baixo custo para recuperação dessas áreas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da dupla inoculação de rizóbio e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento, nodulação e colonização micorrízica de plantas de *Mimosa velloziana* cultivada em substratos compostos por rejeito da mineração de ferro. Foram implantados dois experimentos em casa de vegetação utilizando-se resíduos distintos denominados de Pilha e Cava. Foram testadas dez espécies de fungos, quatro combinações dessas espécies, além de três testemunhas. Todos os tratamentos, exceto as testemunhas, foram inoculados com um coquetel contendo duas estirpes de rizóbio selecionadas para a leguminosa em estudo. Nos dois substratos o tratamento que obteve maior performance para matéria seca da parte aérea e colonização micorrízica foi a mistura de todos os fungos mais N mineral. Embora a nodulação tenha sido abundante, no substrato da cava os tratamentos não diferiram estatisticamente. No das pilhas os tratamentos com mais de uma espécie de fungo apresentaram os melhores resultados. A colonização micorrízica foi positiva, e nos dois substratos, os tratamentos com mais de um fungo obtiveram maior percentagem de raízes colonizadas. Os tratamentos que receberam N mineral obtiveram melhores performances quando comparados com os que receberam as estirpes de rizóbio. Quando se inocula mais de uma espécie de fungo micorrízico arbuscular as plantas de *Mimosa velloziana* apresentam melhores rendimentos. A adubação com N mineral possibilitou maior colonização micorrízica em *Mimosa velloziana*.

Palavras-chave: Rizóbio, Micorrizas, Leguminosa.

ABSTRACT

The iron mining ore is an important activity for the country's economic development, but its implementation has serious environmental impacts as a consequence, such as the removal of vegetation and topsoil. These areas need to be recovered in order to mitigate the environmental liabilities generated by mining activity. The use of leguminous plants associated with nitrogen fixing bacteria and mycorrhizal fungi can be an efficient and low cost recovery for these areas. This study aimed to evaluate the effect of dual inoculation of Rhizobium and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nodulation and mycorrhizal colonization of plant *Mimosa velloziana* cultivated in substrates composed of tailings from mining of iron. Were implanted two experiments in a greenhouse using different waste called Pilha and Cava. Tested ten species of fungi, four combinations of these species, along with three witnesses. All treatments except the controls, were inoculated with a cocktail containing two strains of Rhizobium in legume selected for the study. In both substrates the treatment they received higher performance for dry matter of shoot and root colonization was a mixture of all the fungi more mineral nitrogen. Although the nodule was abundant, the substrate of cava treatments did not differ statistically. In the treatment of cells with more than one species of fungus showed the best results. AMF colonization was positive, and in the two substrates, that treatments with more than one fungus had higher percentage of mycorrhizal roots. The treatments that received mineral N had better performances when compared with those receiving the strains of rhizobia. When inoculated more than one species of arbuscular mycorrhizal fungi in the plants *Mimosa velloziana* have better yields. The mineral fertilizer N rate was greater in the mycorrhizal *Mimosa velloziana*.

Keywords: Rhizobium, Mycorrhiza, Legumes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Fungos Micorrízicos Arbusculares	2
2.2 Nodulação e Fixação Biológica de Nitrogênio em Leguminosas	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	4
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	6
5. CONCLUSÕES	10
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11

1. INTRODUÇÃO

Dentre as atividades antrópicas que degradam o meio ambiente merece destaque a mineração. Não obstante sua importância para o desenvolvimento econômico e social do país, trata-se de uma atividade extremamente impactante, que causa grandes alterações no relevo e uma transformação drástica na paisagem, além de destruir a estrutura física do solo e reduzir seu estoque de matéria orgânica, prejudicando a disponibilidade de água, a atividade biológica bem como o suprimento de nutrientes, como N, P e S às plantas (FRANCO et al. 1996).

A recuperação de áreas degradadas pela mineração exige adoção de técnicas específicas, de acordo com a área e o tipo de minério explorado, não existindo, um modelo único para a recuperação dessas áreas (SILVA et al. 2006). A maioria desses ambientes apresenta substratos com características de retenção de água, de fertilidade e de atividade biológica impróprias ao rápido crescimento vegetal, ou mesmo ao estabelecimento de qualquer tipo de vegetação. Por isso espécies de leguminosas agressivas bem como devem ser utilizadas na fase inicial de estabilização desses substratos (SCHOENHOLTZ et al. 1987, EINLOFT et al. 1999). Neste aspecto *Mimosa vellosiana* é uma leguminosa de hábito escandente tendo, portanto, potencial para revegetação de taludes.

A utilização de leguminosas associadas a microrganismos como bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares pode ser uma alternativa viável e de baixo custo, a simbiose leguminosa-rizóbio-fungo micorrízico arbuscular (FMA) torna a planta mais tolerante a estresses ambientais possibilitando um desenvolvimento satisfatório da planta em ambientes degradados como os de áreas de mineração. A fim de buscar sustentabilidade e minimizar custos a Embrapa Agrobiologia vem utilizando há mais de 20 anos, a técnica de recuperação de áreas degradadas baseada no uso de leguminosas de rápido crescimento, inoculadas com bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares, tornando as plantas total ou parcialmente independentes da adubação mineral. Segundo Siqueira (1983) a dupla inoculação é capaz de reduzir os custos com fertilizantes nitrogenados e fosfatados além de conferir às plantas maior capacidade de absorção de nutrientes induzindo ao aumento da produtividade. O uso dessa tecnologia vem demonstrando sucesso em diversas áreas até mesmo as severamente impactadas pela ação antrópica como em áreas de empréstimo, corte de estradas, voçorocas, áreas de mineração de ferro, ouro, quartzito e bauxita (HERRERA et al., 1993; DOMMERGUES et al., 1999; CHADA et al., 2004; FRANCO & FARIA, 1997; REIS, 2006).

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) é importante não só para a nutrição da planta, visto que o N é o nutriente mais escasso em áreas degradadas, mas também pelo *input* de N no solo, através da deposição de matéria orgânica, o que disponibiliza esse nutriente para as demais espécies vegetais (FRANCO et al. 1996). Para que a utilização dessas espécies seja bem-sucedida, é necessário utilizar estirpes de rizóbio eficientes na FBN. A seleção dessas estirpes é uma etapa fundamental para a produção de inoculantes comerciais, e a inoculação com estirpes eficientes é importante para o melhor desenvolvimento das plantas no campo. (JESUS et al. 2005).

Os efeitos dos FMAs sobre o crescimento e a nodulação de leguminosas já são bem conhecidos (BAREA e AZCÓN-AGUILAR, 1983; CARDOSO, 1985; CARDOSO, 1986). Segundo Barea et al. (1992), o principal papel do fungo é o fornecimento de P para a planta hospedeira e o suprimento da alta demanda desse nutriente para os nódulos. O processo de FBN é altamente exigente em energia na forma de ATP, de modo que o adequado suprimento de P proporcionado pelo FMA beneficia esse processo. As espécies de *Acácia mangium*, *Acácia auriculiformis* (DELA CRUZ et al., 1988), *Albizia lebeck* (FARIA et al., 1995a), *Centrolobium tomentosum* (MARQUES et al., 2001) e *Anadananthera peregrina* (GROSS et

al., 2004) são exemplos de leguminosas que apresentam melhor desenvolvimento e nodulação quando inoculadas com FMAs. Os fungos micorrízicos arbusculares além de promover a agregação do solo, pela liberação de compostos orgânicos, atuam na nutrição da planta fornecendo P para o seu desenvolvimento (CARNEIRO et al., 2004; ANJOS et al., 2005)

São conhecidas hoje, diversas espécies de fungos micorrízicos arbusculares, assim como de bactérias fixadoras de nitrogênio, porém são poucos os estudos que visam avaliar, em nível de espécie, a interação e o efeito desses microrganismos nas plantas, visando posterior utilização dos mesmos no campo, visto que os fungos, por falta de evidências, são considerados sem especificidade hospedeira.

Saggin Júnior e Siqueira (1995) já alertavam para o fato de que diferentes espécies de FMA's devem ser testadas em uma mesma planta, sob as mesmas condições ambientais, para selecionar espécies eficientes quanto à capacidade de promover o crescimento da planta.

O objetivo deste trabalho foi analisar o crescimento inicial e os parâmetros relacionados a nodulação e micorrização de *Mimosa velloziana*, inoculada com estirpes de rizóbio selecionadas e diferentes espécies de FMA's em dois substratos provenientes da mineração de ferro da companhia Vale, oriundos das pilhas de rejeito e das cavas da mina de Itabira-MG.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fungos Micorrízicos Arbusculares

Estudos com raízes fossilizadas evidenciam que as micorrizas surgiram há cerca de 400 milhões de anos, período que coincide com o aparecimento das plantas terrestres. Na luta pela sobrevivência, fungos e plantas desenvolveram a capacidade de se comunicarem molecularmente, através de mecanismos de reconhecimento, tropismo e tactismo que permitiram uma relação simbiótica estável, como se verifica nas micorrizas (Moreira & Siqueira, 2006). O alemão Bernard Frank (1885) fez os primeiros estudos científicos sobre anatomia e ocorrência dessas associações, especulando sobre os possíveis benefícios para as plantas. Essa descoberta foi bastante contestada na época, principalmente por fitopatologistas que diziam se tratar de uma relação parasítica. Frank provou experimentalmente sua natureza mutualista, afirmando tratar-se de “*um órgão morfológicamente característico e com dependência fisiológica íntima e recíproca*”. Desde a época de Frank os estudos das micorrizas têm despertado grande interesse da comunidade científica e tecnológica mundial.

Os principais objetivos da pesquisa dessa simbiose são: aumentar a produção de plantas em solos marginais; facilitar a recuperação de áreas degradadas e solos contaminados; reduzir o uso de insumos químicos, principalmente de fertilizantes e, assim, contribuir para alcançar uma agricultura mais sustentável e menos dependente de insumos manufaturados. É evidente a ênfase em pesquisas com micorrizas arbusculares, sendo a maioria dos trabalhos relacionados a estudos em ecossistemas manejados e, ainda raros, aqueles desenvolvidos em ecossistemas naturais. Essa tendência vem mudando devido à conscientização da importância ecológica das micorrizas no ecossistema. Mais atualmente, estudos em plantas não cultivadas, especialmente espécie arbóreas, e levantamentos de ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em diversos ecossistemas vem acontecendo. A insuficiência de resultados consistentes em campo e a incapacidade de multiplicar FMAs em laboratório têm comprometido os avanços necessários, para aplicação em larga escala dos fungos formadores das micorrizas.

O funcionamento dessa simbiose depende de fatores externos destacando-se a disponibilidade de fósforo, bem como da especificidade entre fungo e planta (grau de

micotrofismo da espécie hospedeira). De acordo com Smith & Read (1997), a ausência de especificidade tem sido estabelecida por falta de evidências. É possível que pequenas diferenças manifestadas na restrição destes parceiros contribuam para reduzida diversidade dos fungos, cerca de 197 espécies (SCHÜBLER et al. 2001), em comparação com a ampla diversidade de espécies hospedeiras. Considerando ser o hábito micotrófico comum nas plantas tropicais, poucas combinações fungo-planta foram estudadas, razão pela qual as micorrizas arbusculares são consideradas sem especificidade hospedeira. Porém evidências de comportamento específico têm aumentado (BEVER, 2002). É bastante conhecido que espécies ou isolados de FMAs diferem em seus efeitos no crescimento da planta ou em funções específicas, como a absorção de nutrientes (ROGERS et al. 1994), bem como são conhecidas as diferenças destes efeitos de acordo com a variação da espécie vegetal (SANDERS et al., 1996), evidenciando a existência de certa especificidade funcional nesta simbiose. Este tipo de especificidade relaciona-se com o balanço entre benefícios e custos do fungo para o hospedeiro (KOIDE, 1991), o que, às vezes, é atribuído a diferenças no grau de colonização ou na eficiência do transporte de nutrientes entre o micossimbionte e a planta, assim como de dreno energético causado pelo fungo nas raízes (ABBOTT & ROBSON, 1982)

Pouyu-Rojas et al. (2006) verificaram, em espécies de leguminosas utilizadas em reflorestamento, um espectro de promiscuidade simbiótica variável de restritas à generalistas, e concluíram que *Glomus clarum* e *Entrophospora colombiana* foram os fungos com maior amplitude de eficiência simbiótica, recomendando também a utilização de *Scutelospora pellucida* e *Glomus etunicatum* para programas de reflorestamento com espécies nativas comuns do Sudeste brasileiro.

2.2 Nodulação e Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) em Leguminosas

As espécies de bactérias fixadoras de nitrogênio nodulíferas em leguminosas têm sido denominadas, coletivamente, de rizóbio. O nome rizóbio originou-se da primeira espécie descrita – *Rhizobium leguminosarum* (FRANK, 1879, 1889). No entanto diversas espécies foram descritas desde então, classificando essas bactérias em diferentes famílias e gêneros. Dentre as simbioses de fixadores de N₂ com plantas, a simbiose de rizóbios com leguminosas certamente se destaca por sua importância econômica, que está relacionada não só à ampla distribuição geográfica e utilização dos hospedeiros, como também, à maior eficiência e eficácia do processo.

A família Leguminosae é uma das maiores famílias botânicas, com aproximadamente 20.000 espécies (LEWIS, 2005). Muitas leguminosas conhecidas são capazes de formar nódulos com bactérias fixadoras de nitrogênio e têm potencial para uso em sistemas agroflorestais, alimentação humana, para a reabilitação de áreas degradadas e para a manutenção da sustentabilidade dos solos (HERRERA et al., 1993; FRANCO e FARIA, 1997).

A capacidade de nodular não é comum a todas as espécies de leguminosas. Muitas espécies não possuem essa característica; entre elas podemos citar o jatobá (*Hymenae courbaril*) e o pau-brasil (*Caesalpinia echinata*). Além disso, para a maioria das espécies não são disponíveis informações sobre essa característica. A posição atual é que cerca de 23% de todas as espécies no mundo já foram estudadas a esse respeito e que, destas, 88% são espécies nodulíferas (FARIA et al., 1999)

Para que a utilização dessas espécies seja bem-sucedida, é necessário utilizar estirpes de rizóbio eficientes na FBN. A seleção dessas estirpes é uma etapa fundamental para a produção de inoculantes comerciais, e a inoculação com estirpes eficientes é importante para

o melhor desenvolvimento das plantas no campo. Normalmente, essa seleção é realizada inicialmente em substratos esterilizados, em vasos-de-Leonard, que constituem um sistema de seleção de grande eficiência (VINCENT, 1970; GIBSON, 1987). Porém, algumas espécies de leguminosas arbóreas, como as dos gêneros *Parapiptadenia* e *Piptadenia*, apresentam problemas de desenvolvimento nesse sistema, dificultando o trabalho de seleção de estirpes (FARIA, 1995). Jesus e Faria (2005) verificaram que *Piptadenia gonoacantha* e *Piptadenia paniculata*, em substrato autoclavado, só nodularam na presença da associação micorrízica. No campo, as plantas dessas espécies se apresentam colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), e esta pode ser uma razão para o desenvolvimento satisfatório e para a boa nodulação dessas espécies nessas condições.

A partir de estudos de Gerdermann (1975), a associação de leguminosas com FMAs foi considerada importante para o processo de nodulação das mesmas. A partir daí diversos estudos foram realizados afim de se conhecer melhor essa tripla interação, e mais especificamente o papel dos FMAs sobre o crescimento e a nodulação das leguminosas (BAREA e AZCÓN-AGUILAR, 1983; CARDOSO, 1985; CARDOSO, 1986; SILVEIRA E CARDOSO, 1987). Para Barea et al. (1992), o principal papel do fungo é o fornecimento de P para a planta hospedeira e o suprimento da alta demanda desse nutriente para as plantas. O processo de FBN é altamente exigente em energia na forma de ATP, de modo que o adequado suprimento de P proporcionado pelo FMA beneficia esse processo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram implantados dois experimentos com a leguminosa *Mimosa velloziana* em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia no município de Seropédica-RJ, utilizando substratos oriundos da mineração de ferro da companhia Vale no município de Itabira-MG. Os substratos são provenientes de taludes de cavas e pilhas de estéril, sendo seus nomes denominados de acordo com a procedência: Cava e Pilha. Os experimentos foram implantados em vaso com volume de 2 dm³. Os substratos apresentaram as seguintes características químicas (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química dos substratos provenientes da cava e das pilhas de rejeito.

Substrato	pH	Al	Ca	Mg	P	K
	Em H ₂ O		cmol _c /dm ³		mg/dm ³	
Cava	4,8	0,1	0,7	0,2	71,1	61,5
Pilha	5,9	0,0	1,1	0,1	41,8	25,5

A espécie em estudo é uma leguminosa da sub-família Mimosoidae que além de possuir a capacidade de se associar com Bactérias fixadoras de nitrogênio e FMA, tem hábito escandente sendo, portanto, recomendada para revegetação de taludes. Os tratamentos utilizados para os dois experimentos consistiram em 10 espécies de fungos micorrízicos arbusculares, 4 combinações e 3 testemunhas (Tabela 2), as testemunhas nitrogenadas receberam 225 mg de N por vaso, num período de 145 dias.

Tabela 2. Tratamentos utilizados nos experimentos.

Nº	Tratamento	Código/Obs
1	<i>Gigaspora margarita</i>	CNPAB 1
2	<i>Glomus clarum</i>	CNPAB 5
3	<i>Gigaspora cândida</i>	BEG 17
4	<i>Entrophospora colombiana</i>	CNPAB 15
5	<i>Glomus sp</i>	FDS 1
6	<i>Glomus intraradices</i>	BIORIZE
7	<i>Acaulospora morrowiae</i>	CNPAB 19
8	<i>Acaulospora scrobiculata</i>	IES 38
9	<i>Scutelospora sp</i>	FDS 2
10	<i>Archaeospora leptoticha</i>	FL 130
Misturas		
1	<i>G. margarita</i> + <i>Gl. Clarum</i>	
2	<i>G.margarita</i> + <i>Gl.clarum</i> + <i>E. colombiana</i>	
3	<i>G.margarita</i> + <i>Gl.clarum</i> + <i>E. colombiana</i> + <i>Scutelospora sp</i>	
4	Todos os fungos	Com Rizóbio
Testemunhas		
	Todos os fungos + N mineral	NH ₄ NO ₃ /Sem Rizóbio
	Testemunha Nitrogenada	NH ₄ NO ₃
	Testemunha absoluta	Sem inoculação e sem adubação

As sementes de *Mimosa velloziana* foram escarificadas em ácido sulfúrico por 10 min, desinfestadas em peróxido de hidrogênio 30% por 5 min e colocadas para pré-germinar em placas de petri esterilizadas contendo algodão e papel de filtro. As plântulas foram repicadas para os vasos logo após a emissão das radículas, cada vaso recebeu quatro plântulas. O inoculante de FMAs consistiu numa mistura de solo, esporo e raízes colonizadas para cada tratamento e cada vaso recebeu um volume de 50 cm³ do mesmo. Os esporos foram extraídos do solo através do método de peneiramento úmido (GERDEMANN e NICOLSON, 1963) seguido de centrifugação em água e sacarose. As estirpes BR 3508 e BR 3509 foram cultivadas separadamente em meio 79 semi-sólido, por três dias sob agitação orbital e misturadas para composição do inoculante rizobiano. Todos os tratamentos, exceto as testemunhas, receberam a aplicação de 1 mL do inóculo. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 4 repetições. Foram analisados as seguintes variáveis: Matéria seca da parte aérea e dos nódulos secos em estufa e taxa de colonização micorrízica.

Os experimentos foram coletados 146 dias após o plantio. A parte aérea e os nódulos foram secos em estufa a 65 °C por 4 dias até obterem pesos constantes para determinação do acúmulo de matéria seca. A colonização micorrízica foi avaliada em amostras de raízes finas clarificadas e coradas de acordo com o método utilizado por Koske e Gemma (1989), e a taxa de colonização micorrízica foi estimada pelo método de intersecção em placa quadriculada de Giovannetti e Mosse (1980).

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade, com o auxílio do programa SAEG (Universidade Federal de Viçosa). Os dados de colonização micorrízica foram classificados de acordo com a classificação apresentada por

Carneiro et al. (1998), em que a colonização micorrízica é considerada baixa quando menor que 20%, média quando variando de 20 a 50% e alta quando maior que 50%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O tratamento que apresentou o maior acúmulo de matéria seca na parte aérea, para os dois substratos, foi a mistura de todos os fungos mais nitrogênio mineral, diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos e mostrando uma diferença bastante significativa em relação às testemunhas nitrogenada e absoluta, no substrato da cava o acúmulo de biomassa na parte aérea foi 2 e 14 vezes maior que as respectivas testemunhas (Figura 1). Essa relação é menor que nos substratos das pilhas devido, provavelmente, às condições físico-químicas desse substrato (Cava), como retenção de água e disponibilidade de nutrientes, o que permitiu um melhor desenvolvimento da testemunha absoluta e um melhor aproveitamento do N mineral pela testemunha nitrogenada. O bom desempenho desse tratamento pode ser atribuído ao benefício do fungo micorrízico na absorção de fósforo. Ao favorecer a absorção de fósforo, o fungo micorrízico possibilitou que houvesse resposta de crescimento ao N aplicado, em especial no tratamento com substrato das pilhas (Figura 2). O aumento da resposta à adubação com N mineral já foi observado em algumas espécies de leguminosas inoculadas com FMAs (FARIA et al., 1995a; FARIA et al., 1995b FARIA et al., 1996). Uma outra hipótese para o bom desempenho desse tratamento seria ausência de nódulos, que representa um dreno de energia na forma de ATP para as plantas, aliada a alta taxa de colonização micorrízica do tratamento nos dois substratos.

Os outros tratamentos que se destacaram na produção de biomassa, no substrato da cava, foram: A Mistura 2 e 3, a primeira apresentando um incremento 6,8 vezes maior que a testemunha absoluta. Os isolados de *Glomus* sp., *Archaeospora leptoticha* e *Acaulospora scrobiculata*, apresentaram, respectivamente, um incremento de 5.1, 3.8 e 3.6 vezes maior que a testemunha absoluta..

As estirpes de rizóbio não fixaram o nitrogênio atmosférico de forma que superasse o nitrogênio fornecido pela adubação nitrogenada no substrato da cava, já que o tratamento que recebeu a mistura de todos os fungos + rizóbio (mistura total) apresentou uma produção de biomassa aérea 7 (sete) vezes menor no substrato das pilhas (Figura 1). Porém Burity et al. (2000) observaram que a inoculação de FMA's + rizóbio proporcionou um acúmulo de biomassa de 12,39g, valor bem acima dos observados neste experimento. Isto pode ser devido às características dos substratos utilizados como a alta densidade. O tratamento *Glomus* sp. + rizóbio obteve desempenho mediano (Figura 3), mas de uma maneira geral as misturas 1, 2, 3 e total, obtiveram melhores performances no substrato das pilhas. Trindade et al. (2000) observaram um padrão diferenciado de colonização radicular e desenvolvimento da parte aérea de mamoeiro utilizando várias espécies de FMA's. Dessa forma, a utilização de várias espécies de FMA's em estudos de recuperação de áreas degradadas, aumenta a possibilidade de um melhor desenvolvimento da planta frente à maior taxa de colonização micorrízica devido à diversidade de espécies (OLIVEIRA et al. 2010)

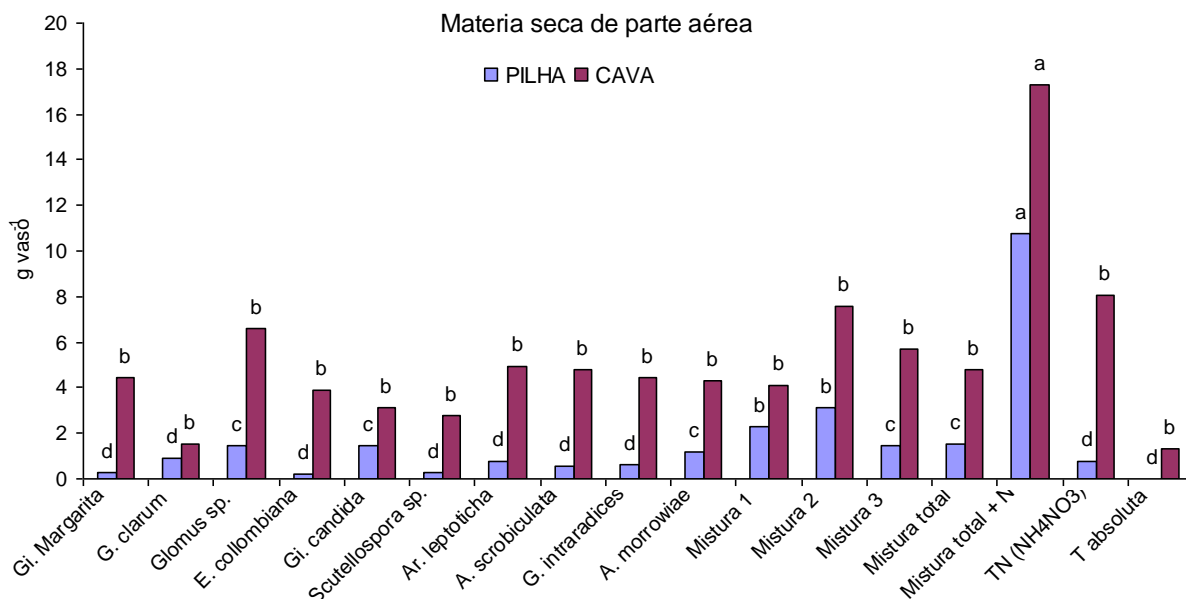


Figura 1. Matéria seca de parte aérea das plantas de *Mimosa veloziana* nos dois substratos da mineração de ferro. Média de quatro repetições. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-knot a 5% de probabilidade. **Mistura 1** (*G.margarita*+*Gl.clarum*); **Mistura 2** (*.margarita*+*Gl.clarum*+*E. colombiana*); **Mistura 3** (*G.margarita*+*Gl.clarum*+*E. colombiana*+*Scutelospora sp*); **Mistura total** (Todos os fungos+rizóbio); **Mistura total + N** (Todos os fungos + NH₄NO₃).

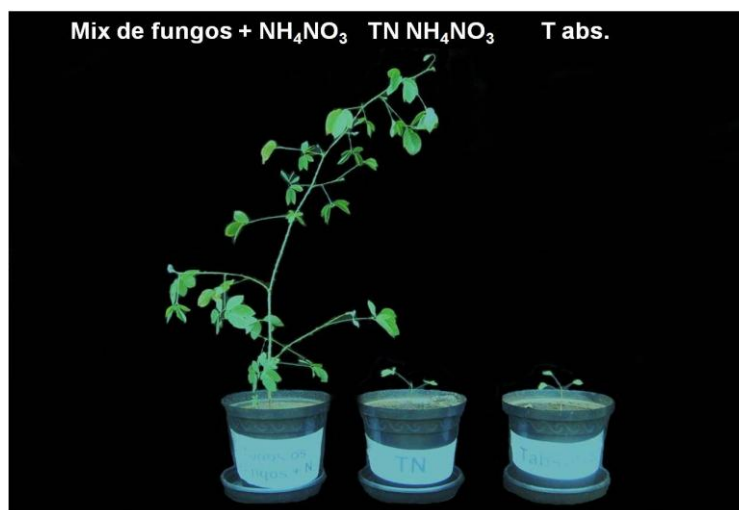


Figura 2. Foto das plantas de *Mimosa veloziana* no substrato das pilhas inoculadas com a mistura de todos os fungos mais nitrogênio, testemunha nitrogenada e testemunha sem inoculação e sem adubação nitrogenada.

O acúmulo de biomassa da parte aérea pode ter sido prejudicado devido à presença de parasitas como pulgões, cochonilhas e lagartas, pragas comuns em casa de vegetação nessa época do ano, o que causou a queda de algumas folhas.

Mesmo o nível de fósforo estando alto nos substratos o efeito do fungo ainda foi

benéfico, comprovando que certas espécies de planta, mesmo na em substratos com níveis altos de fósforo necessitam do auxílio do FMA para absorção deste elemento (SIQUEIRA e SAGGIN-JUNIOR, 2001). A resposta de algumas leguminosas à inoculação com FMAs pode ser verificada mesmo em solo adubado com P (FARIA et al., 1995a; FARIA et al., 1996). O processo de fixação biológica de nitrogênio é um processo altamente exigente em energia na forma de ATP, de modo que o adequado suprimento de P fornecido pelo FMA beneficia esse processo (BAREA e AZCÓN-AGUILAR, 1983; BAREA et al., 1992). O fungo contribuiu para a absorção de parte do N aplicado, o que pode ser facilmente observado quando se compara as plantas que receberam nitrogênio com as plantas que receberam nitrogênio e a mistura de FMA's (Figuras 2 e 4). O aumento da resposta à adubação com N mineral já foi observado em algumas espécies de leguminosas inoculadas com FMAs (FARIA et al., 1995a; FARIA et al., 1995b FARIA et al., 1996).

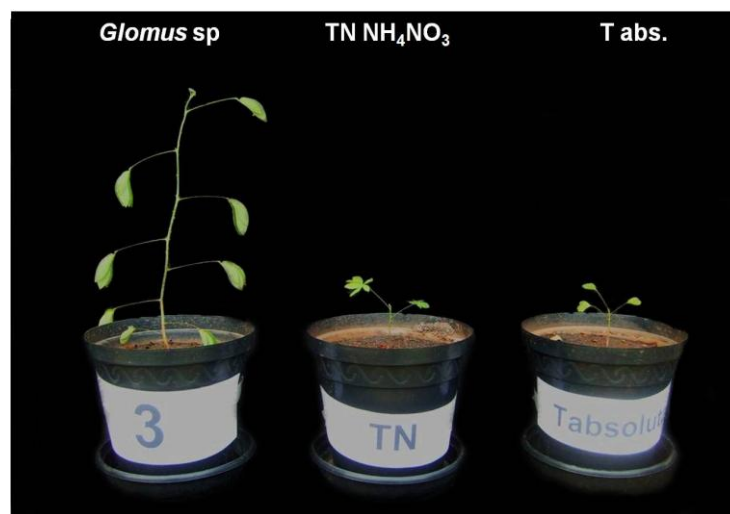


Figura 3. Foto das plantas de *Mimosa vellosiana* no substrato das pilhas inoculadas com *Glomus* sp. + Estirpes de rizóbio, testemunha nitrogenada e testemunha sem inoculação nem adubação nitrogenada.

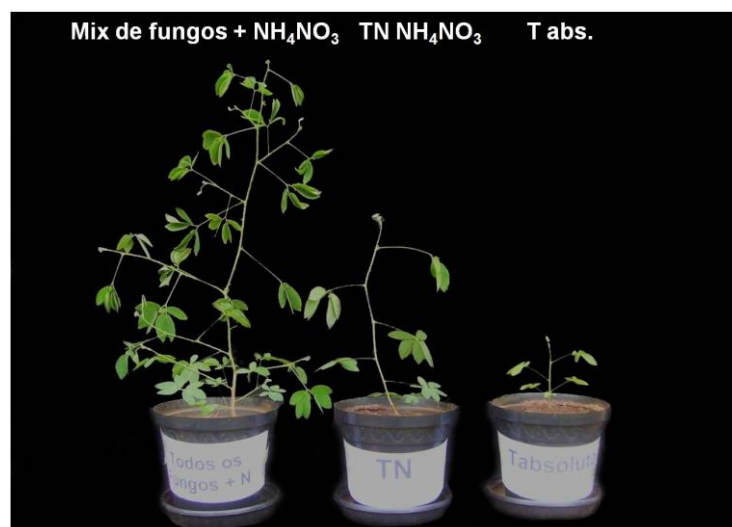


Figura 4. Foto das plantas de *Mimosa veloziana* no substrato das cavas inoculadas com a mistura de todos os fungos mais nitrogênio, testemunha nitrogenada e testemunha sem inoculação e sem adubação nitrogenada.

A nodulação foi abundante nos dois substratos. No substrato de Cava os tratamentos não diferiram estatisticamente, não havendo influência da espécie de fungo nem das misturas no acúmulo de biomassa pelos nódulos. Já no substrato da pilha, os tratamentos que apresentaram maior acúmulo de biomassa de nódulos foram: as quatro misturas (1, 2 3 e total), *Glomus* sp., *Gigaspora candida* e *Archaeospora leptoticha* (Figura 5).

A colonização foi baixa de acordo com a classificação de Carneiro et al. (1998). O único tratamento que diferiu dos demais e apresentou colonização média e alta foi a mistura de todos os fungos mais N mineral (27% em pilha e 53% em cava). O percentual de colonização neste tratamento evidenciou a atuação mutualista do fungo que mesmo assim teve efeito benéfico no desenvolvimento da planta proporcionando uma melhor nutrição mineral quando comparado ao tratamento nitrogenado sem a inoculação com FMA. (Figura 6). Os seguintes tratamentos diferiram estatisticamente dos demais no substrato da cava: As misturas 1, 2, 3 e total e os isolados de: *Glomus clarum*, *Glomus* sp. e *Archaeospora leptoticha*.

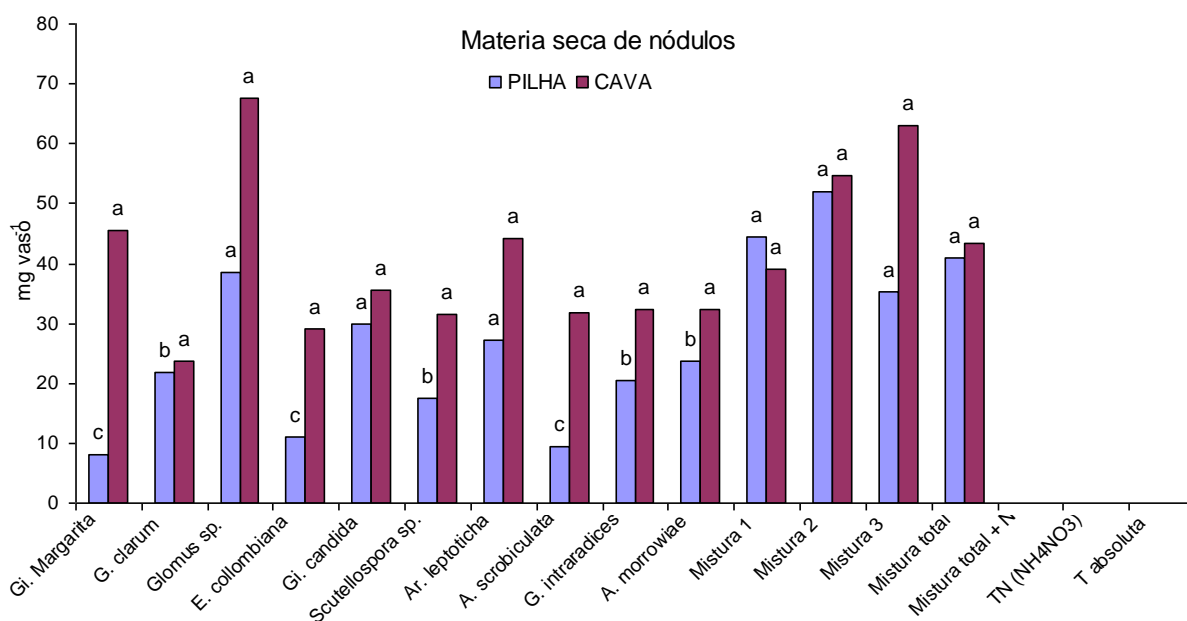


Figura 5. Matéria seca de nódulos nas raízes das plantas de *Mimosa veloziana* nos dois substratos da mineração de ferro. Média de quatro repetições. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-knot a 5% de probabilidade. **Mistura 1** (*G.margarita*+*Gl.clarum*); **Mistura 2** (*G.margarita*+*Gl.clarum*+*E. colombiana*); **Mistura 3** (*G.margarita*+*Gl.clarum*+*E. colombiana*+*Scutelospora sp*); **Mistura total** (Todos os fungos+rizóbio); **Mistura total + N** (Todos os fungos + NH₄NO₃).

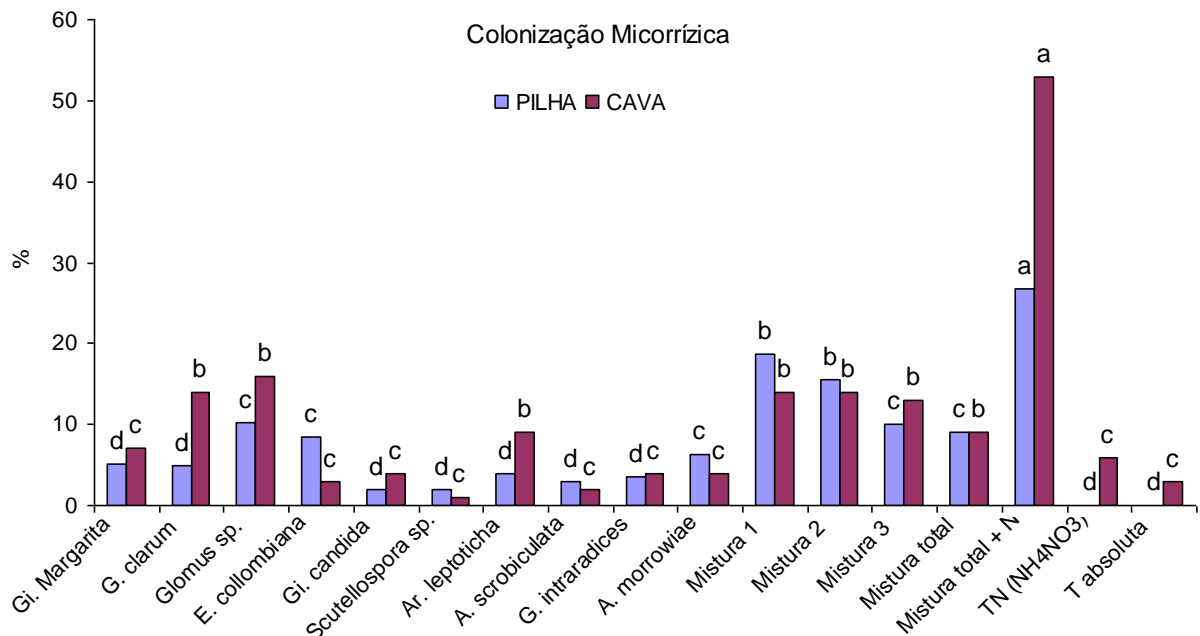


Figura 6. Taxa de colonização micorrízica das plantas de *Mimosa veloziana* nos dois substratos da mineração de ferro. Média de quatro repetições. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-knot a 5% de probabilidade. **Mistura 1** (*G.margarita*+*Gl.clarum*); **Mistura 2** (*.margarita*+*Gl.clarum*+*E. colombiana*); **Mistura 3** (*G.margarita*+*Gl.clarum*+*E. colombiana*+*Scutelospora sp*); **Mistura total** (Todos os fungos+rizóbio); **Mistura total + N** (Todos os fungos + NH₄NO₃).

De uma maneira geral as misturas de fungos apresentaram melhores performances para as variáveis analisadas nos dois substratos.

As plantas de *Mimosa velloziana* se mostraram bastante promíscuas em relação aos fungos inoculados, já que todas as espécies de FMA's colonizaram as raízes, os valores de colonização variaram pouco nas espécies de micossimbionte mostrando uma certa especificidade funcional dos fungos com a planta.

A simbiose com FMA's em solos de áreas degradadas é de ocorrência generalizada (KLAUBERG-FILHO et al., 2002), podendo haver diferenças na colonização da raiz e crescimento vegetal se as condições de cultivo não forem bem controladas como umidade do solo e nutrição (POUYÚ-ROJAS e SIQUEIRA, 2000). Além disso, o sinergismo entre FMA's e rizóbio pode influenciar a colonização radicular destes microrganismos em condições controladas. Por exemplo, os nódulos podem permanecer mais tempo viáveis e a absorção de P pelos FMA's acentuar a sua formação (GROSS et al., 2004; ALMEIDA e RAYMUNDO-JUNIOR, 2006).

5. CONCLUSÕES

1 - Quando se inocula mais uma mistura de espécies de fungos micorrízicos arbusculares as plantas de *Mimosa velloziana* apresentam maior crescimento, nodulação e colonização micorrízica.

2 – Os tratamentos que receberam N mineral obtiveram melhores performances quando comparados com os que receberam as estirpes de rizóbio.

3 – A adubação com N mineral possibilitou maior colonização micorrízica em *Mimosa velloziana*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, L. K.; ROBSON, A. D. The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal in agriculture and selection of fungi for inoculation. **Aust. J. Agric. Res.**, 3: 389-408, 1982.

ALMEIDA, A. F.; RAYMUNDO JR, O. Crescimento de mudas de *Anadenanthera falcata*, em casa-de-vegetação, inoculadas com rizóbio e micorrizas. **Holos Environmental**, v.6, p. 22-30, 2006.

ANJOS, E. C. T.; CAVALCANTE, U. M. T.; SANTOS, V. F.; MAIA, L. C. Produção de mudas de maracujazeiro-doce micorrizadas em solo desinfestado e adubado com fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 345-351, 2005.

BAREA, J. M. et. al. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen fixing systems. In: NORRIS, J. R.; READ, D. J.; VARMA, A. K. (Eds.) **Methods in microbiology**: Techniques for the study of Mycorrhizae. London: Academic Press, 1992. v. 24. p. 391-416.

BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUILAR, C. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. **Advances in Agronomy**, v. 36, p. 1-54, 1983.

BEVER, J. D. Host-specificity of AM fungal population growth rates can generate feedback on plant growth. **Plant Soil**. 244:281-290, 2002.

BURITY, H. A.; VASCONCELOS, L.; FREIRE, V.F. Efeito de níveis de fosfatos de rocha e da inoculação de *Rhizobium* sp. e *Glomus macrocarpum* Tul. Sobre o desenvolvimento de jurema preta, *Mimosa acustistipula* Benth. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 801-807, 2000.

CARDOSO, E. J. B. N. Efeito de micorriza vesículo-arbuscular e fosfato-de-rocha na simbiose Soja-*Rhizobium*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 9, p. 125-130, 1985.

CARDOSO, E. J. B. N. Eficiência de fungos micorrizicos vesículo-arbusculares em soja, com *Rhizobium japonicum* e fosfato de rocha em função do tipo de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 10, p. 17-23, 1986.

CARNEIRO, M. A. C. et al. Micorriza arbuscular em espécies arbóreas e arbustivas nativas de ocorrência no sudeste do Brasil. **Cerne**, v. 4, n. 1, p. 129-145, 1998

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DAVIDE, A. C. Fósforo e inoculação com fungos micorrizicos arbusculares no estabelecimento de mudas de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, p. 119-125, 2004.

CHADA, S.; CAMPELO, E.F.C.; FARIA, S.M. de. Sucessão Vegetal Em Uma Encosta Reflorestada com Leguminosas. **Revista Árvore**, v.28:801-809, 2004.

DELA CRUZ, R. E. et al. Growth of trees inoculated with VA mycorrhizal fungi and *Rhizobium*. **Plant and Soil**. v. 108, p. 111-115, 1988.

DOMMERGUES, Y.; DUHOUX, E.; DIEM, H.G. **Les Arbres Fixateurs D'azote Caractéristiques Fondamentales Et Role Dans L'aménagement Dês Ecosystèmes Méditerranéens Et Tropicaux Avec Référence Particulière Aux Zones Subhumides Et Arides**. Rome: CIRAD, 1999. 499p.

EINLOFT, R.; GRIFFITH, J. J.; RUIZ, H. A. Índice de priorização de gramíneas e leguminosas para revegetação de uma área de empréstimo. **Revista Árvore**. 23 (2): 213-221. 1999.

FARIA, M. P. et al. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. I. *Albizia lebeck* (L.) Benth. **Revista Árvore**, v. 19, n. 3, p. 293-307, 1995a.

FARIA, M. P. et al. Crescimento de leguminosas arbóreas em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. II. *Peltophorum dubim* (Spreng.) Taub. **Revista Árvore**, v. 19, n. 4, p. 433-446, 1995b.

FARIA, M. P. et al. Crescimento inicial de acácia em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 20, p. 209-216, 1996.

FARIA, S. M. Occurrence and rhizobium selection for legume tree, es adapted to acid soils. In: EVANS, D. O.; SZOTT, T. (Eds.). **Nitrogen fixing trees for acid soil**. Hawaii: Nitrogen Fixing Tree Association, 1995. p. 295-300.

FARIA, S. M.; LIMA, H. C.; OLIVARES, F. L.; MELO, R.B.; XAVIER, R. P. Nodulação em espécies florestais: especificidade hospedeira e implicações na sistemática de Leguminosae. In: SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S.; LOPES, A. S. **Inter-relação fertilidade, biologia do solo e nutrição de plantas**. Lavras: SBCE/UFLA/DCS, 1999, p. 667-686.

FRANCO, A. A.; CAMPELO, E.F.C.; DIAS, L. E.; FARIA, S. M. de. **Uso de leguminosas associadas a microrganismos na revegetação de áreas de mineração de bauxita em Porto Trombetas-Pa**. Itaguaí: EMBRAPA-CNPAB; 71p. (EMBRAPA-CNPAB. Documentos, 27). 1996.

FRANCO, A.A. & FARIA, S.M. de. The Contribution Of N₂-Fixing Tree Legumes To Land Reclamation And Sustainability In The Tropics. **Soil Biology Biochemistry**, v. 29, N° 5/6, P. 897-903, 1997.

FRANK, B. Ueber die Parasiten in den Wurzeln-achwillungen der Papilionaceen. **Botanic Ztg**. v. 37, p 376-387, 394-399, 1879.

- FRANK, B. Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen. **Ber Deut. Bot. Ges.**, v.7, p. 332-346, 1889.
- GERDEMANN, J. W. Vascular-arbuscular mycorrhizal. In: TORREY, J. G.; CRARKSON, D. T. (Ed). **The development and functions of roots**. London: Academic Press, 1975, p. 575-591.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 46: 235-244, 1963.
- GIBSON, A. L. Evaluation of nitrogen fixation by legumes in the greenhouse and growth chamber. In: ELKAN, H. (Ed). **Symbiotic nitrogen fixation technology**. New York: Marcel Dekker, 1987. p. 321-369.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, v. 84, p. 489-490, 1980.
- GROSS, E.; CORDEIRO, L.; CAETANO, F. H. Nodulação e micorrização em *Anadenanthera peregrina* var. *falcata* em solo de cerrado autoclavado e não autoclavado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 28, p. 95-101, 2004.
- HERRERA, M.A.; SALAMANCA, C.P.; BAREA, J.M. Inoculation Of Woody Legumes With Select Arbuscular Mycorrhizal Fungi And Rhizobia To Recover Desertified Mediterranean Ecosystems. **Applied Environment Microbiology**, 59 (1), 129-133. 1993.
- JESUS, E. C.; SCHIAVO, J. A.; FARIA, S. M. Dependência de micorrizas para nodulação de leguminosas arbóreas tropicais. **Revista Árvore**. Vol. 29, n 4. 2005.
- KLAUBERG-FILHO, O.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F.M.S. Fungos Micorrízicos arbusculares em solos de área poluída com metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v. 26, p. 125-134, 2002.
- KOIDE, R. T. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. **New Phytology**, 117: 365-386, 1991.
- KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A. A modified procedure for staining roots to detected VA mycorrhizas. **Mycology Research**, n. 92, p. 488-505, 1989.
- LEWIS, G.; SCHIRIRE, B. D.; MACKINDER, B. A; LOCK, J. M. (2ed). **Legumes in the world**, Royal Botanic Gardens, Kew, UK, 2005.
- MARQUES, M. S.; PAGANO, M.; SCOTTI, M. R. Dual inoculation of a woody legume (*Centropogon tomentosum*) with rizobhia and mycorrhizal fungi in south-eastern Brazil. **Agroforestry System**, v. 52, p. 107-117, 2001.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2. ed.- Lavras. Editora UFLA, 2006. 729p.

- OLIVEIRA, D. E. C.; SILVA, A. V.; ALMEIDA, A. F.; SIA, E. F.; RAYMUNDO JUNIOR, O. Fungos micorrízicos arbusculares e rizóbio no crescimento inicial de *Acácia mangium* Wild. em solo de mineração da região sudoeste do estado de Goiás. **Global Science and Technology**, v. 03, n. 01, p. 01 – 10, jan/abr. 2010.
- POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O. Micorriza arbuscular e fertilização do solo no desenvolvimento pós-transplante de mudas de sete espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v. 35, p. 103-114, 2000.
- POUYU-ROJAS, E.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, J. G. D. Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 30: 413-424, 2006.
- REIS, L.L. Monitoramento da Recuperação Ambiental de Áreas de Mineração de Bauxita Na Floresta Nacional de Sacará-Taquera, Porto Trombetas (PA). 2006. 159p. Tese (Doutorado) – **Universidade Federal Rural Do Rio de Janeiro**, Seropédica.
- ROGERS, J. B.; CHRISTIE, P.; LAIDLAW, A. S. Some evidence of host specificity in arbuscular mycorrhizas. **Pedosphere**, 4: 377-381, 1994.
- SAGGIN-JUNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J. O. Avaliação da eficiência simbiótica de fungos endomicorrízicos para o cafeeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 19, p.221-228, 1995.
- SANDERS, I. R.; CLAPP, J.P.; WIEMKEN, A. The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystem – A key to understanding the ecology and functioning of mycorrhizal symbiosis. **New Phytol.** 133: 123-134, 1996)
- SIQUEIRA, J. O. **Nutritional and adhaphic factors affecting spores germination, germ tube and root colonization by vesicular-arbuscular-mycorrhizal fungi**. PhD. Dissertation, Gainesville, University of Florida, 159p. 1983.
- SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J. Dependecy on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody appecies. **Mycorrhiza**, v. 11, p. 245-255, 2001.
- SILVA, G. P.; FONTES, M. P. F.; COSTA, L. M.; VENEGAS, V. H A. Potencialidades de plantas para revegetação de estéreis e rejeito da mineração de ferro da mina de alegria, Mariana – MG. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 36 (3): 165-172, 2006.
- SCHOENHOLTZ, S. H.; BURGER, J. A.; TORBERT J. L. Natural mycorrhizal colonization of pines on reclamaid surface mines in Virginia. **Journal of Envirom. Qual.** 16(2): 143-146. 1987.
- SMITH, E. S.; READ, J. D. **Mycorrhizal symbiosis**. 2 ed. New York: Academic Press, 1997. 605p.
- VINCENT, J. M. **A manual for the practical study of root-nodule bacteria**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1970. (International Biological Programme Handbook, 15).

