

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA**

**ROCHAS POTÁSSICAS MOÍDAS NA PRODUÇÃO DE  
MUDAS DE *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong  
INOCULADAS COM MICRORGANISMO SOLUBILIZADOR DE  
POTÁSSIO**

**RANUSA COFFLER**

**ORIENTADORA: Eliane Maria Ribeiro da Silva**

**SEROPÉDICA – RJ  
JULHO - 2007**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA**

**ROCHAS POTÁSSICAS MOÍDAS NA PRODUÇÃO DE MUDAS DE  
*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong INOCULADAS COM  
MICRORGANISMO SOLUBILIZADOR DE POTÁSSIO**

**RANUSA COFFLER**

Monografia apresentada ao Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Aprovada em 31 de julho de 2007

Banca Examinadora:

---

Pesq. Eliane Maria Ribeiro da Silva – EMBRAPA AGROBIOLOGIA  
Orientadora

---

Pesq. Orivaldo José Saggin Júnior – EMBRAPA AGROBIOLOGIA

---

Prof.º Paulo Sérgio dos Santos Leles – UFRRJ

## AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, em especial aos meus avós, tios e tias que sempre me incentivaram a lutar pelos meus sonhos dando força e coragem nos momentos difíceis, bem como aos meus irmãos Alex e Alexandra que para mim são exemplos de pessoas dignas, que como eu, seguiram os ensinamentos de meus pais. Ao meu pai, Eusébio José Coffler, que apesar de tantas dificuldades que a vida lhe impôs conseguiu vencer e formar uma família maravilhosa como a nossa. E à você, minha mãe querida, Rosalinda Broetto Coffler, sempre com seus pés ao chão, realista e sonhadora ao mesmo tempo. Exemplo de vida, batalhadora que consegue realizar tudo que almeja através de sua força de vontade e simplicidade.

Ao meu namorado Renato Gutler que sempre esteve ao meu lado dando forças desde o primeiro momento na Universidade até a finalização, ainda que distante mostrou-se sempre presente. E à minha filhinha Ana Elisa que mesmo sem ter chegado a este mundo já mudou minha vida me tornando uma pessoa muito mais feliz e completa.

À minha querida amiga Lédia de Fátima Malavasi, que mostra com o seu viver como a vida deve ser vivida. Guerreira, sua força e dedicação são exemplos que nos ensinam a enfrentar as adversidades do dia a dia. Mostrando-me a pequenez de minhas dificuldades se comparadas às suas. E sua filha, minha afilhada, Amanda Malavasi da Silva, que me mostra uma forma diferente de viver todos os dias.

À “miga” Marília Alves Grugiki, pela amizade compartilhada que com certeza continuará pela vida inteira. A amiga Lourdes Regina C. Santos, por me incentivar a ser uma “mulher poderosa”, me mostrando que com força de vontade, dedicação e persistência podemos ser tudo que quisermos. E a todas as amigas do Alojamento F-3 302 (UFRRJ) que me mostraram como conviver com as diferenças e respeitar sempre o espaço do outro. Bem como aos colegas de turma pelo companheirismo e a convivência do dia a dia.

Aos Grupos de Oração de Santa Teresa-ES e da Rural (GOU) pelo fortalecimento espiritual nos momentos difíceis, me transmitindo através de pessoas iluminadas o que Deus tinha a me dizer nestes momentos. E a todos que não citei nome, mas que contribuíram direta e indiretamente em minha vida, tanto pessoal quanto profissional, como os amigos do Alojamento e de outros Cursos, em especial aos de Agronomia, os quais conquistei e que estarão sempre guardados em meu coração.

Ao meu professor Márcio, da Escola Agrotécnica Federal de Santa Teresa – ES, que me ajudou a descobrir o Curso de Engenharia Florestal a quem serei eternamente grata.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que através dos funcionários e professores contribuem para a qualidade do ensino no Brasil e, muito colaboraram para minha formação. Em especial a todos da Embrapa Agrobiologia pela oportunidade de aprendizado tal como ao Laboratório de Micorrizas pelo acolhimento. A Embrapa Solos pelo auxílio nas análises de tecido foliar. E à Empresa Júnior de Engenharia Florestal da UFRRJ (Flora Júnior) pela oportunidade de participar de sua fundação e ver que a cada período, novos integrantes continuam o ideal, realizando atividades que contribuem para a formação de novos Engenheiros Florestais.

À minha orientadora Eliane Maria Ribeiro da Silva, que foi além de profissional uma amiga me dando conselhos e me mostrando seu exemplo de vida.

Ao meu co-orientador Orivaldo José Saggin Júnior, profissional dedicado, que me ensinou acima de tudo a organização e a seriedade.

E a Deus, ser supremo e absoluto a quem entrego meu caminho todos os dias e confio tudo em minha vida.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. A importância do potássio.....	2
2.2. A espécie arbórea escolhida.....	3
2.3. Uso de microrganismos.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	5
3.1. Isolamento e seleção dos microrganismos solubilizadores de potássio.....	5
3.2. Preparo do inoculante de microrganismo solubilizador de potássio.....	7
3.3. Preparo do substrato para formação das mudas.....	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
5. CONCLUSÕES.....	18
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
7. ANEXO 1A .....	23

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi isolar e selecionar microrganismos potenciais solubilizadores de potássio para serem inoculados na produção de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* utilizando rochas potássicas moídas inoculadas com FMAs, rizóbio e microrganismo solubilizador de potássio. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Embrapa Agrobiologia. Inicialmente, 13 isolados de microrganismos solubilizadores de potássio foram obtidos em seis solos provenientes da região do Cerrado de Minas Gerais. Para o isolamento destes microrganismos, foi utilizado o meio de cultura GL (glicose e extrato de levedura), que recebeu as diluições seriadas sucessivas destes diferentes solos. Dos 13 isolados avaliados, dois deles, os microrganismos 3 e 4, apresentaram-se como potenciais solubilizadores de rochas potássicas, pois além de elevar o pH, disponibilizaram maior quantidade de potássio ao meio de cultura. Estes isolados selecionados foram cultivados *in vitro* para posterior inoculação do experimento em casa de vegetação. No experimento de casa de vegetação foram utilizadas cinco rochas potássicas (carbonatito, brecha piroclástica, biotita xisto, ultramáfica alcalina e flogopitito) como fonte de potássio além do KCl como fonte solúvel em cinco doses crescentes de K<sub>2</sub>O (0, 25, 50, 100 e 200 mg.kg<sup>-1</sup>). O substrato foi preparado no viveiro de mudas da Embrapa Agrobiologia, utilizando-se areia, composto orgânico, argila, fosfato natural e calcário. Foi feita a aplicação das diferentes fontes de potássio, incubadas por 45 dias, para posterior distribuição em bandejas de isopor, onde cada célula foi inoculada com FMAs (*G. clarum* e *G. margarita*), rizóbio e microrganismo solubilizador de potássio. A espécie arbórea utilizada foi *Enterolobium contortisiliquum*, leguminosa fixadora de nitrogênio e que faz associação com fungos micorrízicos. Foram feitas medições mensais de altura e diâmetro, avaliação da colonização micorrízica, densidade de esporos na rizosfera, peso de parte aérea e raízes frescas e secas, análise do substrato após a coleta do experimento e análise de tecido foliar. O experimento foi coletado 90 dias após a semeadura. De acordo com os resultados, houve diferença significativa para as variáveis peso de parte aérea e raízes frescas e secas para as diferentes rochas, sendo o KCl a fonte de K que apresentou melhores médias. O mesmo ocorreu com as variáveis diâmetro das mudas aos 90 dias após a semeadura (DAS) e altura das mudas aos 30 dias após a semeadura. Não houve diferença em relação à colonização micorrízica e nem para a análise de teores de K no tecido foliar. Houve diferença significativa na densidade de esporos para as fontes de K ultramáfica alcalina, flogopitito e carbonatito onde à medida que houve um aumento na dose de K aplicada houve uma diminuição no número de esporos no substrato. As rochas que se mostraram potenciais para a produção de mudas de *E. contortisiliquum* foram carbonatito, flogopitito e ultramáfica alcalina.

Palavras chave: orelha de negro, fontes de K, substrato.

## ABSTRACT

This work had as objective isolate and select potentials potassium solubilizing microorganisms to be used in the production of seedlings of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. Utilizing potassic rocks mill inoculated with rizóbio, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and solubilizing of potassium. The experiment was lead greenhouse in Embrapa Agrobiologia. Initially, 13 isolated of potassium solubilizing microorganisms they were obtained in six coming soils of the area of the Savannah of Minas Gerais. For the isolation of these microorganisms, the middle of culture was used GL (glucose and yeast extract), that it received the successive serial dilutions of these different soils. Of the isolated 13 appraised, two of them, the microorganisms 3 and 4, came as potentials potassium solubilizing microorganisms, because besides elevating the pH, disponibilizaram larger amount of potassium to the middle of culture. These isolated selected in vitro were cultivated for subsequent inoculation of the experiment vegetation home. In the experiment of greenhouse, five rocks potássicas were used (carbonatite, breach piroclastic, biotite schist, ultramafic alkaline and flogopitite) as potassium source besides KCl as soluble source in five growing doses de  $K_2O$  (0, 25, 50, 100 and 200 mg  $kg^{-1}$ ). The substratum was prepared in the nursery of seedlings of Embrapa Agrobiologia, being used sand, organic composition, clay, limy and fosfate natural. It was made the manuring with the different potassium sources, incubated by 45 days, for subsequent distribution in isopor trays, where each cell was inoculated with FMAs (*G. clarum* and *G. margarita*), rizóbio and microorganism potassium solubilizador. The arboreal species used was *Enterolobium contortisiliquum*, leguminous nitrogen-fixing and that she makes association with arbuscular mycorrhizal fungi. They were made monthly measurements of height and diameter, evaluation of the colonization micorrízica, density of spores in the rizosfera, weight of aerial part and fresh and dry roots and fabric analysis to foliate. The experiment was collected 90 days after the sowing. In agreement with resulted it, there was significant difference for the variables weight of aerial part and fresh root and root dries for the different rocks, being KCl the source of K that presented better medium. The same happened with the variables diameter of the seedlings to the 90 days after the sowing and height of the seedlings to the 30 days after the sowing. There was not difference in relation to the colonization micorrízica and nor for the analysis of tenors of K in the fabric to foliate. There was significant difference in the density of spores for the sources of K alkaline ultramáfica, flogopitito and carbonatito where as there was an increase in the dose of applied K there was a decrease in the number of spores in the substratum. The rocks that potentials were shown for the production of seedlings of *E. contortisiliquum* were carbonatite, flogopitite and ultramafic alkaline.

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de rochas naturais moídas na agricultura como fonte de nutrientes às plantas é muito antiga, e a aplicação desse material têm apresentado um crescimento considerável, principalmente por parte de agricultores que praticam a agricultura orgânica. As rochas moídas de emprego mais comum na agricultura são as calcárias, usadas com a função de corretivo da acidez do solo, e as rochas fosfáticas (apatitas), aplicadas de forma natural ou servindo como fonte de matéria prima para a produção de fertilizantes solúveis. Contudo, de acordo com as normas de produção e certificação dos produtos orgânicos de origem vegetal, o emprego de fertilizantes minerais prontamente solúveis no processo de produção não é permitido. Deste modo, o uso de rochas moídas representa uma alternativa de insumo natural a esses agricultores. A utilização de rocha natural moída também está sendo destinada à tentativa de recuperação de solos empobrecidos, desequilibrados e que perderam seus constituintes minerais (BARRETO, 1998).

Uma adequada mistura de rochas moídas pode contribuir com quantidades expressivas de nutrientes às plantas a médio e longo prazo, mesmo considerando que a maioria dos minerais primários presentes nas rochas apresenta baixa solubilidade. A liberação lenta dos nutrientes, por outro lado, pode constituir vantagem, na medida em que as perdas por lixiviação serão menores, e o efeito residual é mais longo, dispensando a necessidade de adubações freqüentes, como na agricultura convencional. Segundo OSTERROHT (2003), a aplicação de rochas moídas apresenta alguns fatores condicionadores para que se obtenha resultado. A granulometria do material deve ser fina, para que o aumento da superfície exposta favoreça a ação do intemperismo pelo ataque dos agentes químicos e biológicos. O uso de pó de rochas de composição à base de silicatos como fertilizantes é bastante defendida em algumas correntes da agricultura orgânica, em razão de seu amplo conteúdo mineral e à sua potencialidade em liberar nutriente (GAMA, 2003). Dentre as rochas disponíveis para a agricultura está o basalto, rico em nutrientes e menos resistente ao intemperismo, liberando mais facilmente os elementos. Caracteriza-se por apresentar quantidades expressivas de minerais primários do grupo dos plagioclásios e piroxênios, e nos saprólitos também ocorrem argilominerais do grupo da esmectita (ATLAS, 1986). Ainda que um grande número de entidades ligadas à agricultura orgânica venha empregando esses materiais na agricultura (PEDINI, 2000), são insuficientes os estudos com fundamentos científicos que avaliem o efeito da aplicação desses materiais no desenvolvimento de plantas cultivadas de ciclo curto, principalmente no que se refere ao efeito residual em culturas subseqüentes.

Cerca de 95% da produção mundial de potássio é consumida sob a forma de fertilizantes e a parte restante, nas indústrias químicas e correlatas. Embora já disponha de uma fonte doméstica produtora de potássio, Taquari-Vassouras (OLIVEIRA & SOUZA, 2001), o Brasil continua dependente da importação para suprir a demanda interna, sendo o Cloreto de Potássio responsável por considerável valor das importações brasileiras.

O uso de rochas potássicas como fontes de potássio apresenta um grande atrativo econômico, pois a agropecuária brasileira depende da importação de cerca de 90% do que consome desse nutriente, o que exige uma ação coordenada no sentido de buscar fontes de potássio alternativas às rochas de maior solubilidade importadas pelo Brasil.

Os solos minerais em sua maioria, dispõem de um total de potássio comparativamente elevado. Na realidade, as quantidades totais deste elemento são em geral, maiores do que as de qualquer dos outros elementos nutrientes principais. Apesar disso, via de regra, é muito pequena a quantidade de potássio mantida na condição de fácil permuta (BRADY, 1989). A maior porção deste elemento acha-se rigidamente retida como integrante dos minerais

primários ou fixada sob formas que, na melhor das hipóteses, são apenas moderadamente permutáveis com os vegetais (LEITE, et. al., 1985).

Os conhecimentos sobre o solo evoluíram junto com a evolução da química, sendo que os processos químicos do solo foram os primeiros a serem desvendados e que proporcionaram as principais respostas às intervenções humanas. Assim criou-se o mito que os processos químicos do solo seriam os processos chaves para a fertilidade e produtividade dos solos. Os recentes estudos sobre a biologia do solo, ainda em seu início e com lacunas a preencher, têm indicado que esses processos químicos do solo são profundamente mediados pela ação biológica.

Desde 1998, estão sendo realizadas pesquisas, onde têm sido testadas rochas como fontes alternativas de nutrientes para a agricultura. Considerando os resultados obtidos, rochas contendo quantidades razoáveis de flogopita ou biotita devem ser testadas como fontes alternativas de potássio na agricultura. Alguns desses tipos de rochas são os kamafugitos, flogopititos, biotititos, kimberlitos, biotita xistos, carbonatitos etc. A distribuição desses tipos de rochas potenciais e outros são amplos e variáveis no território nacional e necessitam ser prospectados, no sentido geológico de que passam a ser prováveis minérios de potássio.

Com o crescente desenvolvimento da agricultura orgânica, sente-se a necessidade do uso de fontes alternativas de fertilizantes potássicos em sistemas de produção orgânica. A idéia de usar rochas como fonte de nutrientes é antiga no Brasil, mas, começou a ser estudada de forma mais profunda, apenas em 1998. Formou-se então uma rede de estudos de rochas de complexos carbonitíticos, ricos em carbonato e flogopita. A partir desses estudos concluiu-se que essas rochas, de origem ígnea, apresentam características similares aos calcários de origem sedimentar, no que diz respeito à correção, e como fonte potencial de potássio. (MARTINS, 2001; ANDRADE et. Al., 2002).

Através dessas iniciativas almeja-se encontrar soluções práticas e satisfatórias para a demanda de potássio para a agricultura orgânica, bem como para todo o sistema agropecuário.

O objetivo deste trabalho foi isolar microrganismos potenciais solubilizadores de potássio para serem inoculados na produção de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* utilizando rochas potássicas moídas inoculadas com FMAs, rizóbio e microrganismo solubilizador de potássio.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 – A importância do potássio para as plantas**

O teor de K nas plantas é tipicamente de 1-5%. Este é absorvido pelas raízes na forma  $K^+$ , embora ocorra principalmente em várias outras formas no solo. O K é um elemento móvel que é translocado aos tecidos meristemáticos jovens caso ocorra deficiência. Ao contrário do N, S e P, o K não se combina com outros elementos para formar protoplasma, gorduras e celulose, sendo sua função principal catalítica por natureza. As principais funções do K são: ativação enzimática, regulação osmótica e controle de abertura dos estômatos, regulação de energia (síntese de ATP), translocação de assimilados, absorção de N e síntese de proteínas e de amido (enchimento de grãos).

Os solos brasileiros, em geral, apresentam carência de potássio, isso porque a forma solúvel, utilizada pela planta é facilmente lixiviada no perfil do solo. Isso pode explicar porque somente a presença de uma rocha matriz rica não garante o suprimento abundante. A baixa capacidade de troca catiônica (CTC) desses solos implica em baixa capacidade de armazenamento de potássio. O potássio é um dos macronutrientes mais utilizados pela planta, perdendo apenas para o nitrogênio.

VILELA et al. (2002) apontam a forma trocável (adsorvido) do potássio no solo como a mais importante para as plantas em solos sob Cerrado. A outra forma em que o potássio está disponível para a planta é a forma solúvel, porém, perde-se muito por lixiviação.

Do total do potássio utilizado em 2002, apenas 11,45% foram produzidos no Brasil, evidenciando a grande dependência de potássio. Das quatro fontes primárias de potássio, o Brasil produz apenas o KCl (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS, 2003). Neste mesmo ano o consumo aparente brasileiro dessas fontes foi cerca de 2,96 milhões de toneladas de  $K_2O$ , dos quais 88,5% foram importados.

Devido ao fato da maior parte do potássio usado na agricultura brasileira estar sendo importada equivalendo a elevados custos, novas alternativas tem sido procuradas (SILVA & RITCHEY 1982). LEITE & LOPES (1985) estudaram misturas de rochas de baixa solubilidade sob diferentes tratamentos térmicos como fonte alternativa de macronutrientes (P, K, Ca e Mg) e corretivo. A melhor combinação foi obtida por Verbete do Abaeté e fosfato de Araxá na proporção 1: 1 adicionada de 30 ou 40% de calcário magnesiano e submetida a um tratamento térmico de fusão.

Cada vez mais, é de grande importância o estudo de fontes alternativas de potássio, não só para manter o equilíbrio da balança comercial, mas também para dar sustentabilidade à agricultura procurando introduzir técnicas alternativas menos impactantes diminuindo o ritmo de degradação do ambiente.

## **2.2 – A escolha da espécie**

A incorporação de material orgânico ao solo é a principal premissa para o sucesso de programas de reabilitação de áreas degradadas principalmente nos trópicos onde predominam solos altamente intemperizados, com elevada saturação por alumínio, acidez e alta capacidade de fixação de fósforo. Estas condições são frequentemente observadas na maioria dos solos brasileiros e leguminosas arbóreas capazes de superá-las são sem dúvida uma ótima alternativa quando o objetivo é o rápido estabelecimento de uma comunidade arbórea, criando condições para que os processos de ciclagem de nutrientes e sucessão florestal se estabeleçam (CAMPELLO, 1998). Nestas condições, especial ênfase é dada ao uso de espécies leguminosas arbóreas fixadoras de  $N_2$  e capazes de formar simbiose com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Estas atuam como colonizadoras primárias, incorporando ao solo C e N na forma de matéria orgânica de baixa relação C/N, favorecendo o retorno da vida ao solo e intensificando a ciclagem de nutrientes. As leguminosas arbóreas contribuem também para a recuperação do solo pela ação das raízes, com formato pivotante, desenvolvendo-se no solo de forma agressiva, rompendo e desfragmentando camadas compactadas, melhorando a agregação das partículas do solo devido à exsudação da raiz. A decomposição da liteira e o crescimento das raízes estabilizam o solo, aumentam a atividade biológica do mesmo e criam condições propícias para o estabelecimento de outras espécies mais exigentes. (FRANCO et al., 1995). Estas espécies arbóreas podem ainda dar retorno econômico pela produção de lenha, madeira, forragem, pólen, mel etc (FRANCO et al., 1995). FRANCO & FARIA (1997) relatam que a presença de FMAs aumenta a capacidade das espécies leguminosas arbóreas absorverem nutrientes, principalmente P e água no solo. Além disso, diversos microrganismos do solo apresentam a capacidade de solubilizar diferentes formas de fosfatos inorgânicos, constituindo-se em alternativa viável ao melhor aproveitamento do P existente no solo.

As leguminosas arbóreas são caracterizadas por serem espécies pioneiras, agressivas, aparecendo em ampla faixa de condições climáticas e edáficas e de elevada produção de biomassa, as leguminosas florestais têm recebido destaques importantes na recuperação de solos degradados (FRANCO et al., 1992).

O *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong é uma leguminosa arbórea da família Mimosoidae, planta decídua no inverno, heliófita, pioneira, dispersa em várias formações florestais. Na floresta primária é pouco comum e, quase sempre concentrada em solos úmidos. Em capoeiras e estágios mais adiantados da sucessão secundária sua frequência é maior. Não produz sementes todos os anos. É ótima para reflorestamento de áreas degradadas de preservação permanente em plantios mistos, principalmente por seu rápido crescimento inicial (LORENZI, 1992). Esta espécie tem grande importância em reflorestamentos para recuperação ambiental, pois, os frutos são muito procurados por animais silvestres, como a paca (*Agouti paca*) e a cutia (*Dasyprocta azarae*), principais dispersores das sementes, atraindo esses animais para estas áreas em recuperação (CARVALHO, 2003). Em áreas degradadas apresenta alto índice de sobrevivência devido sua associação com bactérias fixadoras de nitrogênio (FARIA et. al., 1984; GAIAD & CARPANEZZI, 1984) e fungos micorrízicos (VASCONCELOS, 1982), adaptando-se as mais variadas condições adversas.

### 2.3 - Uso de microrganismos

O solo é um sistema dinâmico onde fatores de natureza física, química e biológica interagem continuamente. As transformações microbianas, assim como as diferentes reações químicas do solo, podem ser alteradas de acordo com os tipos de manejos adotados. A biomassa microbiana constitui um meio de transformação para todos os materiais orgânicos do solo e atua como reservatório de nutrientes vegetais. O reconhecimento da importância dos microrganismos do solo tem levado a um aumento no interesse em se medir os nutrientes contidos em sua biomassa, cuja estimativa fornece dados úteis sobre mudanças nas propriedades biológicas do solo decorrentes de seu uso.

Processos chaves nos ciclos biogeoquímicos dos nutrientes são mediados ou dependentes da ação biológica. Assim, uma intervenção agroecológica devia necessariamente proporcionar estímulos às atividades dos organismos do solo, aí compreendido o complexo das plantas, a fauna edáfica e o conjunto de microrganismos, entre eles os fungos micorrízicos que se associam às raízes de diversas plantas aumentando a superfície de contato com o mesmo. Os fungos micorrízicos são fundamentais para absorção de fósforo, possibilitando condições de absorção muito superiores às normais (FEIDEN, 2001). Estes são quase universais nos ecossistemas terrestres, pois a condição da raiz não associada a eles é exceção na natureza (HARLEY, 1989), o não estabelecimento desta simbiose é considerado um evento da evolução recente entre os vegetais e está restrito a poucas famílias (TRAPPE, 1987). Entre os fungos micorrízicos, os denominados fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são importantes, pois se associam à maioria das plantas e, quando em associação, favorecem o crescimento destas pela maior absorção de água e nutrientes, principalmente fósforo (P). Isso proporciona à planta uma maior tolerância a estresses bióticos e abióticos (MOREIRA & SIQUEIRA, 2002). Essa associação torna-se de extrema importância em solos de baixa fertilidade ou degradado, onde micorrizas do tipo arbuscular favorecem o estabelecimento das plantas, maximizam o uso de nutrientes no solo, como o fósforo (P), cobre (Cu) e zinco (Zn), aumentam a fixação biológica do nitrogênio nas leguminosas e promovem a sustentabilidade do ambiente (JOHNSON & PFLEGER, 1992).

A microbiota do solo pode ser usada como indicador de status de diversos agroecossistemas afetando o crescimento e nutrição de plantas. Embora exista alto potencial para o uso de microrganismos solubilizadores como inoculantes, seu amplo uso permanece limitado devido ao pouco conhecimento de ecologia microbiana e dinâmica de populações no solo (FRANCO & FARIA, 1997)

O fósforo é geralmente o nutriente mais limitante em solos tropicais sendo os microrganismos solubilizadores de fosfato um dos grupos microbianos de grande relevância, pois apresentam capacidade de mineralizar fosfatos orgânicos e solubilizar formas de P inorgânico, disponibilizando o P para as plantas (SILVA FILHO, 1998). Estes microrganismos podem representar cerca de 50% da população da microbiota do solo (CHABOT et al. 1993). Entretanto, autores como KUCEY (1983) descreveram uma população fúngica e bacteriana solubilizadora equivalente a 0,1 e 0,5%, respectivamente. De acordo com SILVA FILHO et al. (1998) a população de microrganismos solubilizadores de fosfatos existentes nos solos está entre  $10^4$  e  $10^7$  UFC por  $g^{-1}$  de solo, variando conforme o local e método de avaliação.

Sabe-se que os FMAs podem alterar a eficiência de absorção e de utilização interna do fósforo absorvido (BOLAN, 1991), mas não determinar a disponibilização dos fosfatos no solo (AZCÓN-AGUILAR & BAREA, 1978). Em trabalho desenvolvido com a participação da equipe da Embrapa Agrobiologia (SOUCHIE et al., 2004) comparou isolados de fungos solubilizadores de fosfato (FSF) associados ou não com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) sobre o crescimento e nutrição de trevo (*Trifolium pratense*). Verificou-se que a inoculação de FMAs incrementou o crescimento do trevo em quase todos os tratamentos de fungos solubilizadores. Comparando-se os tratamentos de inoculação na presença e ausência de FMAs, *Aspergillus niger* e o fungo FSF 21 foram os que mais se destacaram em sinergismo com FMAs. Tal resultado também deve ser testado com solubilizadores selecionados para rochas potássicas, podendo estes isolados solubilizadores dar sua contribuição na produção de mudas inoculadas com fungos micorrízicos e rizóbio.

Um outro processo de grande importância envolvendo microrganismos é a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN). A incorporação de N via FBN aos diferentes ecossistemas do planeta é bastante elevada, representando uma economia substancial de energia fóssil, normalmente empregada na produção de fertilizantes nitrogenados necessários para atender a demanda da agricultura mundial. A primeira descrição de bactéria fixadora de  $N_2$  atmosférico, também conhecida como diazotróficas foi feita em 1893, sendo até hoje os rizóbios os mais estudados (FERNANDES, 2006). Alguns trabalhos mostram o efeito benéfico da inoculação de rizóbio e FMAs na promoção do crescimento de leguminosas arbóreas. A inoculação de *Leucaena leucocephala* com FMAs e rizóbio em solo deficiente em fósforo favoreceu a nodulação e aumentou o peso e o conteúdo de N e P nas plantas quando comparada com a inoculação com cada microrganismo separadamente (MANJUNATH et. al., 1984). DOBEREINER (1967), mostrou que mudas de sabiá inoculadas com rizóbio apresentaram uma maior taxa de sobrevivência após o transplante do que as adubadas com esterco bovino, sem inoculação.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Isolamento e seleção dos microrganismos solubilizadores de potássio

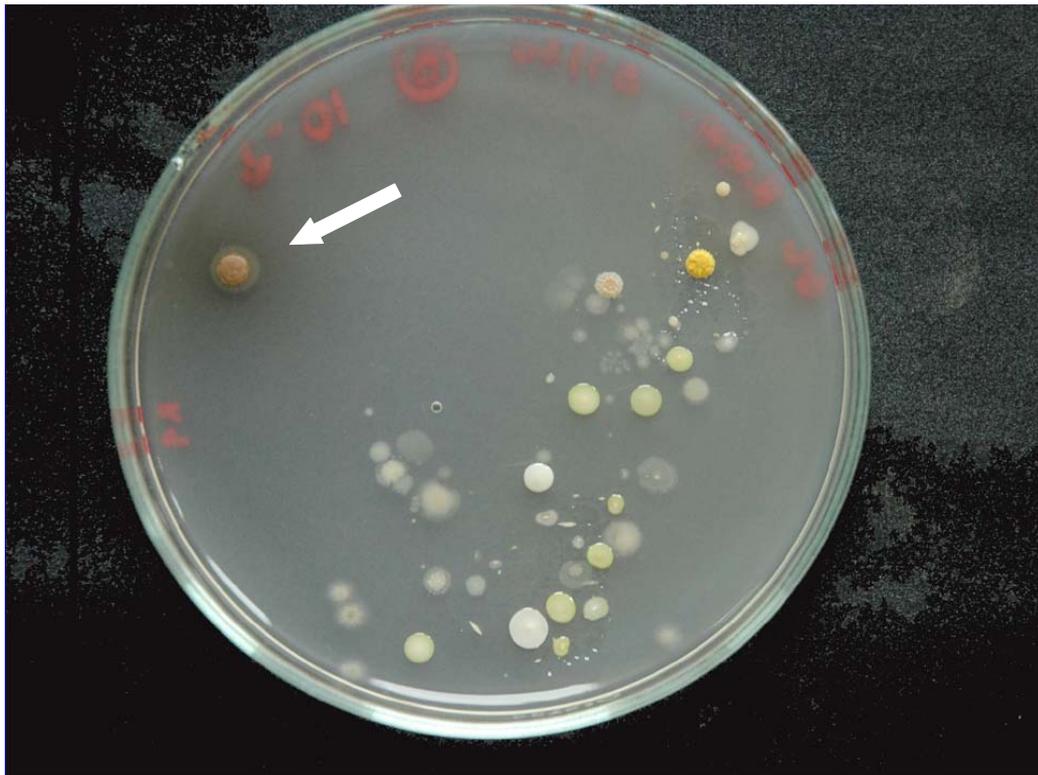
O isolamento dos microrganismos solubilizadores de potássio foi feito no Laboratório de Micorrizas da Embrapa Agrobiologia, onde foram utilizadas amostras de solo do rizoplano mais rizosfera das espécies descritas na Tabela 5 provenientes de 6 áreas de Cerrado no Estado de Minas Gerais (Tabela 1). De cada amostra de solo retirou-se 10g de solo que foram misturados em 90mL de NaCl  $1g L^{-1}$ , seguindo o método das diluições sucessivas de  $10^{-1}$  até  $10^{-5}$ . De cada diluição foram transferidas alíquotas de 100 $\mu$ L, com o auxílio de pipeta automática, para placas esterilizadas, acrescentando-se imediatamente sobre as placas contendo as alíquotas o meio mantido à temperatura de 45°C (método “Pour –Plate”), sendo

utilizadas 3 repetições para cada diluição. Este processo foi repetido por duas vezes, a primeira utilizando o meio GL (Agar 15g, Glicose 10g, Extrato de Levedura 2g, pH 5,8) e a segunda utilizando o meio GAGES (Agar 15g, Glicose 10g, Extrato de solo 100mL,  $\text{MgSO}_4$  ( $100\text{g L}^{-1}$ ) 2 mL,  $\text{NaCl}$  ( $100\text{g L}^{-1}$ ) 1mL,  $\text{CaCl}_2$  ( $10\text{g L}^{-1}$ ) 2mL, pH 5,6) adaptados de SYLVESTER-BRADLEY et al. (1982), acrescentando em ambos 3g da rocha Brecha Piroclástica moída na granulometria de 0,3mm, para cada litro de meio preparado, que equivale a  $0,12\text{g L}^{-1}$  de K. Este procedimento não representou um experimento em si, foram feitas repetições para que um maior número de isolados pudesse ser obtido pois as alíquotas utilizadas são muito baixas, o que muitas vezes dificulta o procedimento de isolamento.

**Tabela 1:** Localização das áreas utilizadas para coleta do solo usado no isolamento dos microrganismos solubilizadores de potássio.

Área	Localização geográfica	Localização georeferenciada
1	Itumirim - MG	S 21°16' 31,3" e W 44° 49' 31,3"
2	Itumirim - MG	S 21°16' 31,9" e W 44° 49' 31,7"
3	Itumirim - MG	S 21°16' 42,7" e W 44° 49' 37,3"
4	Itumirim - MG	S 21°16' 35,0" e W 44° 49' 41,0"
5	Barbacena - MG	S 21°16' 26,1" e W 44° 49' 45,4"
6	Barbacena - MG	S 21°19' 44,9" e W 43° 35' 07,2"

As placas que receberam as alíquotas das diluições dos respectivos solos caracterizados acima contendo os meios GL e GAGES foram incubadas por 9 dias a 28° C. As colônias que apresentaram halo, indicando algum tipo de solubilização, foram purificadas a partir das diluições  $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ , que foram as diluições onde as colônias ficaram um pouco mais isoladas podendo distinguir o halo de solubilização (Figura 1). Esses isolados foram estocados em tubo de ensaio contendo meio GL sólido inclinado e óleo mineral sem controle da temperatura, para que pudessem ser utilizados posteriormente. Após a estocagem, os microrganismos isolados foram crescidos em meio GL acrescido de um sal neutro de potássio ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) em duas concentrações ( $0,12\text{g L}^{-1}$  e  $0,48\text{g L}^{-1}$ ) para observação da eficiência do seu crescimento na presença de potássio solúvel, isso porque a fonte de potássio utilizada para o seu isolamento foi a rocha brecha piroclástica, que além do potássio continha outros nutrientes. Para testar a eficiência em solubilizar o potássio a partir das rochas, o meio GL foi preparado sem a adição de agar (meio líquido), mas com a adição de brecha piroclástica moída equivalente a  $0,12\text{g L}^{-1}$  de K, transferindo-se 5mL desse meio para tubos de ensaio onde os microrganismos foram incubados, com 4 repetições. Aos 3 e 7 dias de incubação foi avaliado o teor de potássio livre (solúvel) através de leitura do meio em fotômetro de chama.



**Figura 1: Seta indicando microrganismos isolados a partir da formação de halo.**

### **3.2 Inoculação da mudas com microrganismo solubilizador de potássio**

Para que pudéssemos utilizar o microrganismo solubilizador de potássio selecionado como inoculante nas mudas de *E. contortisiliquum*, este teve que ser crescido em meio GL sólido, acrescido da rocha brecha piroclástica em garrafas de Roux (Figura 2A), pois encontramos dificuldade de crescê-lo em meio líquido. O meio GL acrescido da rocha brecha piroclástica foi preparado como estabelecido anteriormente no item relacionado ao isolamento de microrganismos solubilizadores de potássio. Para que o meio ficasse um pouco mais consistente e não dissolvesse no momento em que foi feita a suspensão, foram utilizados 20g de agar por litro de meio preparado. Em cada garrafa foram colocados 100mL de meio GL e após autoclavadas, as garrafas foram deitadas para obtenção de uma maior superfície de contato. O microrganismo que se mostrou mais promissor pelo fato de disponibilizar mais potássio para o meio de cultura e elevar o pH, foi inicialmente crescido em placas de Petri, e posteriormente foi feita uma suspensão com tweem 20 (1%) e o auxílio de uma alça de Drigalski e inoculou-se 3mL desta suspensão em cada garrafa. Após a incubação por 27 dias a temperatura de 28°C, utilizou-se areia autoclavada e 150mL de solução tweem 20 (1%) (Figura 2B) totalmente esterilizadas em cada garrafa para que o microrganismo solubilizador pudesse ser retirado das garrafas de Roux e com a suspensão obtida inoculou-se o experimento com mudas de *E. contortisiliquum* em casa de vegetação. As garrafas foram colocadas por cerca de cinco minutos em agitação para que o microrganismo pudesse ser removido em suspensão, todo material removido foi armazenado em um Erlemmeyer previamente esterilizado (Figura 2C) e 1mL desta suspensão foi inoculado no substrato no momento do plantio (Figura 2D).



**Figura 2:** Etapas para preparo do inoculante microrganismo solubilizador de K selecionado anteriormente em maior escala (A, B, C e D), visando à inoculação das mudas.

### 3.3 Preparo do substrato para formação das mudas

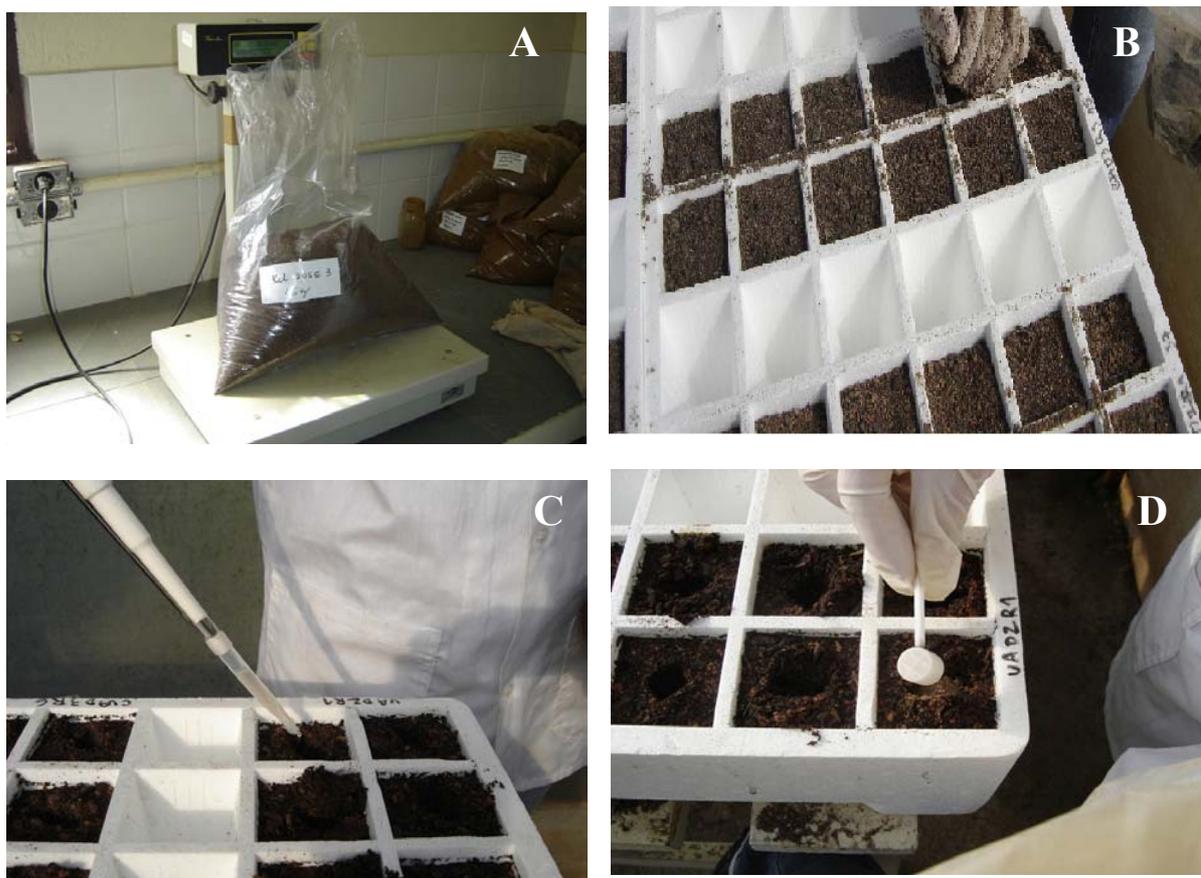
O substrato utilizado para a produção das mudas de *Enterolobium contortisiliquum* foi preparado no Viveiro de Mudanças da Embrapa Agrobiologia, utilizando a seguinte composição: 1L de composto, 750mL de areia, 500mL de argila, 104g de fosfato natural e 0,8g de calcário. Após o preparo do substrato, este foi dividido em sacos plásticos contendo 8kg cada um para que as rochas fossem incubadas na dosagem pré-estabelecida (Figura 3A e Tabela 2). Após 45 dias de incubação com as rochas (Tabela 3) para que os nutrientes em especial o potássio pudessem ser disponibilizados, o substrato foi distribuído nas bandejas de isopor (Figura 3B) e foi separado substrato para fazer análise química antes da semeadura (Tabela 4). O experimento foi conduzido em bandejas de isopor de 72 células, onde foram testados cinco tipos de rochas potássicas moídas na granulometria de 0,3mm e uma fonte solúvel (carbonatito, flogopitito, brecha piroclástica, ultramáfica alcalina, biotita xisto e KCl), usadas em cinco doses crescentes de  $K_2O$  (0, 25, 50, 100, 200mg.kg<sup>-1</sup>) no substrato de formação das mudas. As mudas foram inoculadas com FMAs, rizóbio e microrganismo solubilizador de potássio em todos os tratamentos. O microrganismo solubilizador de potássio foi inoculado no solo com o uso de uma pipeta automática de 1mL (Figuras 3C), o inóculo FMAs foi inoculado com o uso de um medidor contendo 1g de inoculante contendo esporos e propágulos (Figuras 3D) e o rizóbio foi revestido na semente usando como veículo a turfa, através das estirpes BR 6205 e BR 4406 após a mesma ter sido escarificada por 15 minutos em ácido sulfúrico (EIRA et.al., 1993) para que fosse quebrada a dormência tegumentar. Foram inseridas 3 sementes por célula e o desbaste, deixando apenas a muda mais vigorosa, foi feito aos 15 dias após a semeadura, sendo que as mudas foram cortadas com uma tesoura de poda para que não danificasse o sistema radicular das mudas remanescentes.

**Tabela 2:** Quantidades de rochas aplicadas por kg de substrato utilizados para cada tratamento potássico do experimento com *E. contortisiliquum*

Fontes de K	Doses de K (mg.Kg <sup>-1</sup> )				
	0	25	50	100	200
Carbonatito	0	2,05	4,10	8,10	16,20
Brecha piroclástica	0	0,60	1,20	2,40	4,80
Biotita xisto	0	0,82	1,64	3,28	6,36
Ultramáfica alcalina	0	0,94	1,88	3,76	7,52
Flogopitito	0	0,52	1,04	2,08	4,16
KCl	0	0,05	0,10	0,20	0,40

**Tabela 3 :** Caracterização das rochas utilizadas para a produção de mudas de *E. contortisiliquum*.

Rochas	Origem	Mineralogia	K <sub>2</sub> O (%)
Carbonatito	Catalão, GO	Carbonatos, flogopita, magnetita, ilmenita, piroxênio, apatita	1,47
Brecha Piroclástica	Rio Verde, GO	Flogopita, carbonatos, feldespato K, zeólita	5,01
Biotita Xisto	Itabira, BA	Biotita, clorita, quartzo	3,66
Ultramáfica alcalina	Lages, SC	olivina, diopsídio, flogopita	3,20
Flogopitito	-	-	5,77



**Figura 3:** Etapas efetuadas para instalação do experimento com mudas de *E. contortisiliquum* (A, B, C e D).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x5 (cinco rochas potássicas e equivalente em KCl x cinco doses crescentes) com 6 repetições, onde cada repetição era composta por 12 plantas. Foram feitas medições de altura e diâmetro a altura do colo das mudas de *E. contortisiliquum* por um período de três meses (novembro, dezembro e janeiro) e após esse período (janeiro) o experimento foi coletado, sendo retiradas duas plantas por parcela, as quais se encontravam com valores de altura mais próxima à média do tratamento. Essas mudas foram retiradas para obtenção de peso de parte aérea e raízes frescas e secas e avaliação da colonização micorrízica. Foi coletado substrato para avaliação da densidade de esporos na rizosfera e análise do substrato após a retirada do experimento. Após as avaliações de peso da parte aérea seca, esta foi moída, para que pudessem ser efetuadas as análises de nutrientes na parte aérea (teores de potássio). A biomassa seca da parte aérea e das raízes foi obtida através do uso de estufa a 65°C e pesagem em balança analítica. A clarificação e coloração das raízes para análise da colonização foram procedidas de acordo com a metodologia proposta por PHILIPS & HAYMAN (1970) e adaptada por KOSKE & GEMMA, 1989 e GRACE & STRIBLEY, 1991 e a percentagem de colonização foi obtida segundo McGONIGLE et. al, (1990). Os esporos foram extraídos do solo por peneiramento úmido e feita à contagem de esporos em microscópio estereoscópio, conforme GERDEMANN & NICOLSON (1963) e centrifugação em solução de sacarose (JENKINS, 1964). As análises de solo foram feitas no Laboratório de solos da Embrapa Agrobiologia. A análise de nutrientes da parte aérea de *E. contortisiliquum* foi feita na Embrapa Solos, através da digestão nitroperclórica.

**Tabela 4:** Análise do substrato antes da instalação do experimento, após 45 dias de incubação das rochas

Rochas /doses mg de K.Kg <sup>-1</sup>	pH	Al	Ca	Mg	K mg/dm <sup>3</sup>
Dose 0	6,4	0,0	5,8	0,9	640
Flogopitito					
25	6,5	0,0	6,1	0,9	580
50	6,5	0,0	6,9	0,9	550
100	6,6	0,0	7,8	0,9	590
200	6,4	0,0	6,8	0,9	630
Brecha piroclástica					
25	6,4	0,0	3,7	1,5	560
50	6,6	0,0	5,5	1,5	640
100	6,4	0,0	6,3	0,8	870
200	6,5	0,0	6,6	0,9	520
Biotita xisto					
25	6,5	0,0	6,7	0,9	600
50	6,9	0,0	6,8	0,5	990
100	6,7	0,0	6,8	0,8	660
200	6,6	0,0	6,5	0,8	300
Carbonatito					
25	6,7	0,0	6,9	0,9	600
50	6,9	0,0	7,0	0,8	500
100	6,7	0,0	6,3	1,4	730
200	7,1	0,0	5,8	1,2	560

continuação

Ultramáfica alcalina					
25	6,7	0,0	5,8	0,6	700
50	6,9	0,0	7,5	0,5	790
100	6,7	0,0	6,0	0,8	700
200	6,8	0,0	5,8	0,7	710
KCl					
25	6,4	0,0	7,5	0,7	530
50	6,5	0,0	3,1	1,5	470
100	6,5	0,0	7,1	0,8	550
200	6,5	0,0	7,1	0,8	620

A análise estatística foi feita utilizando o programa SISVAR 4.6, onde foi feito teste de médias para as fontes de K aplicadas, teste de regressão para as doses e também para a interação entre as fontes de K e doses. Os resultados serão demonstrados através de gráficos, os quais se apresentaram significantes e com melhor ajuste. Em anexo encontram-se os resultados da análise de variância.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O meio de cultura GL possibilitou melhor isolamento de microrganismos solubilizadores de K possibilitando a visualização do halo de solubilização formado. No meio GAGES não foi observado formação de halo ou qualquer diferenciação entre colônias que pudessem caracterizar claramente quais microrganismos eram solubilizadores.

O isolamento e estocagem dos microrganismos resultaram na obtenção de 13 isolados com formação de halo no meio contendo a rocha brecha piroclástica (Tabela 5). As áreas com vegetação de campo apresentaram maior número de isolados que áreas de mata, sendo que das duas áreas onde crescem praticamente como única vegetação a invasora conhecida como samambaia do campo (*P. aquilinum*) obteve-se 50% dos isolados.

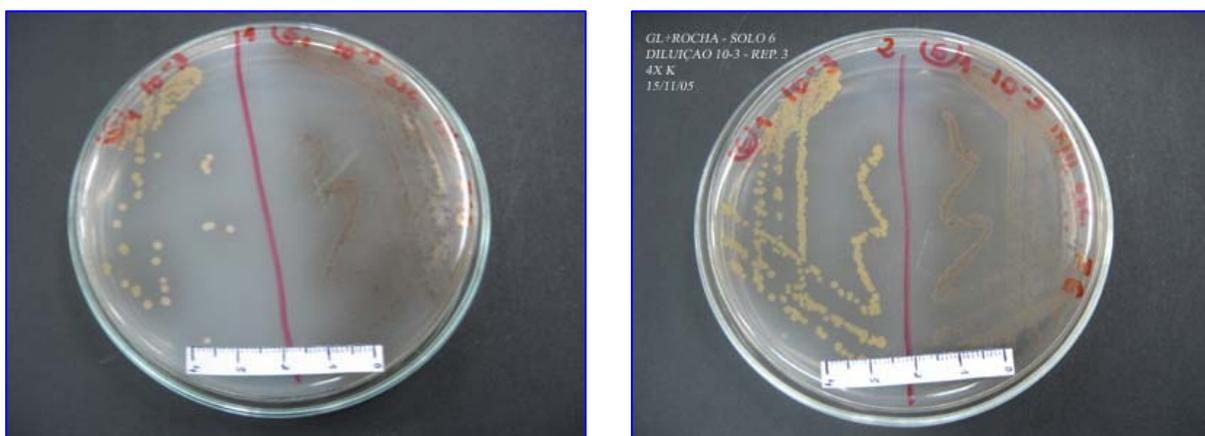
**Tabela 5:** Área, planta, tipo de vegetação e número de isolados de solubilizadores de potássio

Área	Planta	Tipo de vegetação no bioma Cerrado	Número de isolados
1	Óleo de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> )	Mata	0
2	Pindaíba ( <i>Xylopia brasiliensis</i> )	Mata	2
3	Capim barba de bode ( <i>Aristida pallens</i> )	Campo	1
4	Gabiroba ( <i>Campomanesia pubescens</i> )	Campo	3
5	Samambaia ( <i>Pteridium aquilinum</i> )	Campo com única espécie	3
6	Samambaia ( <i>Pteridium aquilinum</i> )	Campo com única espécie	4

Os isolados quando crescidos em duas concentrações de  $K_2SO_4$  mostraram maior desenvolvimento das colônias na maior concentração ( $0,48 \text{ g L}^{-1}$ ) de K (Figura 4). Isto evidencia que são microrganismos que dependem bastante deste nutriente para seu crescimento, o que os torna potenciais utilizadores do K presente em rochas, transformando-o numa forma mais solúvel.

O teste para avaliar a eficiência de solubilização K a partir da rocha brecha piroclástica, mostrou diferenças entre os 13 isolados quanto à capacidade de solubilizar potássio (Tabela 6).

As diferenças entre os isolados quanto à capacidade de manter K solúvel no meio se evidenciaram no sétimo dia de crescimento, onde os isolados 3 e 4 se destacam dos demais, mantendo maiores níveis de K solúvel. Os isolados 1, 2, 11 e 12 também se apresentam como promissores. O isolado 6 foi o que menos solubilizou K ou o que mais retirou K do meio. Se a segunda hipótese for a verdadeira, este microrganismo pode ser de interesse já que seu ciclo de vida é relativamente curto, podendo o K ser disponibilizado rapidamente. Em relação ao pH do meio, as diferenças também se evidenciaram no sétimo dia onde o pH apresentou valores mais elevados o que pode ter acontecido por estes microrganismos serem provenientes de um local onde o pH era muito baixo e uma forma destes sobreviverem seria através de algum meio que tornasse o ambiente mais favorável ao seu desenvolvimento podendo ser tornar o pH mais básico do que o encontrado na natureza..



**Figura 4:** Comparação do crescimento das colônias com adição de 0,12 (A) e 0,48 g L<sup>-1</sup> de K (B).

**Tabela 6:** Potássio solúvel e pH no meio GL líquido adicionado da rocha brecha piroclástica moída, aos 3 e 7 dias de crescimento dos isolados de solubilizadores de K

Meio /isolado	3º dia de crescimento		7º dia de crescimento	
	K solúvel (mg. L <sup>-1</sup> )	pH	K solúvel (mg. L <sup>-1</sup> )	pH
GL+ brecha	94 a	5,3 b	104 d	5,6 b
GL+ brecha + isolado 1	78 a	5,0 b	153 b	6,3 a
GL+ brecha + isolado 2	93 a	7,0 a	163 b	6,4 a
GL+ brecha + isolado 3	101 a	5,8 b	181 a	6,6 a
GL+ brecha + isolado 4	103 a	5,4 b	183 a	6,6 a
GL+ brecha + isolado 5	99 a	5,5 b	140 c	6,3 a
GL+ brecha + isolado 6	90 a	5,2 b	104 d	6,7 a
GL+ brecha + isolado 7	94 a	5,3 b	140 c	5,8 b
GL+ brecha + isolado 8	93 a	5,3 b	122 c	6,1 b
GL+ brecha + isolado 9	92 a	5,7 b	124 c	5,8 b
GL+ brecha + isolado 10	98 a	6,1 b	132 c	5,8 b
GL+ brecha + isolado 11	92 a	5,4 b	166 b	6,0 b
GL+ brecha + isolado 12	99 a	5,7 b	163 b	6,5 a
GL+ brecha + isolado 13	85 a	5,2 b	126 c	5,7 b

Médias com letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5%.

Em trabalho realizado por MARRIEL et. al. (2006) para verificar a solubilização de K este observou que a cinética de liberação de K disponível em meio de cultura mostra aumento gradativo da concentração de K disponível do meio de cultura ao longo do tempo de incubação da rocha e um acréscimo mais acentuado somente após o décimo dia, independentemente dos isolados que foram testados.

Os valores dos teores de nutrientes encontrados no substrato através da análise química deste antes da instalação do experimento nos mostram que o próprio substrato utilizado no viveiro para a produção de mudas já apresenta elevados teores de K o que pode ter minimizado os efeitos da aplicação das doses crescentes de K (Tabela 2). Acredita-se que a fonte de potássio encontrada na dose 0, tenha sido a matéria orgânica já que nenhuma outra fonte de potássio foi utilizada.

Outro fator a se considerar foi a perda deste nutriente provavelmente por lixiviação devido a irrigação ter sido feita 2 a 3 vezes ao dia devido ao forte calor ocorrido entre os meses de outubro a janeiro, período em que o experimento ficou instalado em casa de vegetação (Tabela 8).

Os valores absorvidos pelas mudas através da análise de tecido foliar estiveram em torno de 13 mg/planta o que não explica a diminuição brusca dos valores de K no substrato

Fato já pesquisado anteriormente é o tipo de extrator utilizado nas análises de solo. O extrator Mehlich I poderia superestimar os valores de K extraídos das rochas potássicas segundo MACHADO et. al, ( 2005), porém, de acordo com estudos posteriores do mesmo autor (MACHADO et. al, 2006) o extrator Mehlich I foi o mais adequado na quantificação do K disponibilizado pelas diferentes fontes de K ou pela quantidade extraída em função das doses aplicadas.

A colonização micorrízica não apresentou diferença significativa, assim como a análise de teor de potássio na parte aérea. A análise de massa da parte aérea e da raiz mostraram diferenças entre os tratamentos de acordo com a Tabela 7 apenas para as fontes de K de acordo com o teste Scott-Knot a 5%, onde a fonte solúvel (KCl) apresentou maiores valores de média. Para essas variáveis não houve efeito de dose e nem da interação entre dose e as fontes de K aplicadas.

**Tabela 7:** Variáveis de crescimento das mudas de *Enterolobium contortisiliquum* adubadas com diferentes rochas potássicas moídas

ROCHAS	MFPA (g)	MSPA (g)	MFR (g)	MSR (g)	ALT 30 (cm)	DIA 90 (mm)	Nº ESP/50mL
FL	3,12 b	1,00 b	2,71 b	0,51 b	7,96 a	3,46 b	487 a
CA	2,98 b	0,98 b	2,63 b	0,51 b	7,85 a	3,45 b	589 a
BP	2,90 b	0,93 b	2,54 b	0,51 b	7,90 a	3,36 b	420 a
UA	3,02 b	1,02 b	2,66 b	0,51 b	7,84 a	3,47 b	574 a
BX	3,00 b	0,98 b	2,65 b	0,53 b	8,00 a	2,96 b	322 b
KCl	3,89 a	1,21 a	3,28 a	0,68 a	7,65 b	3,66 a	238 b

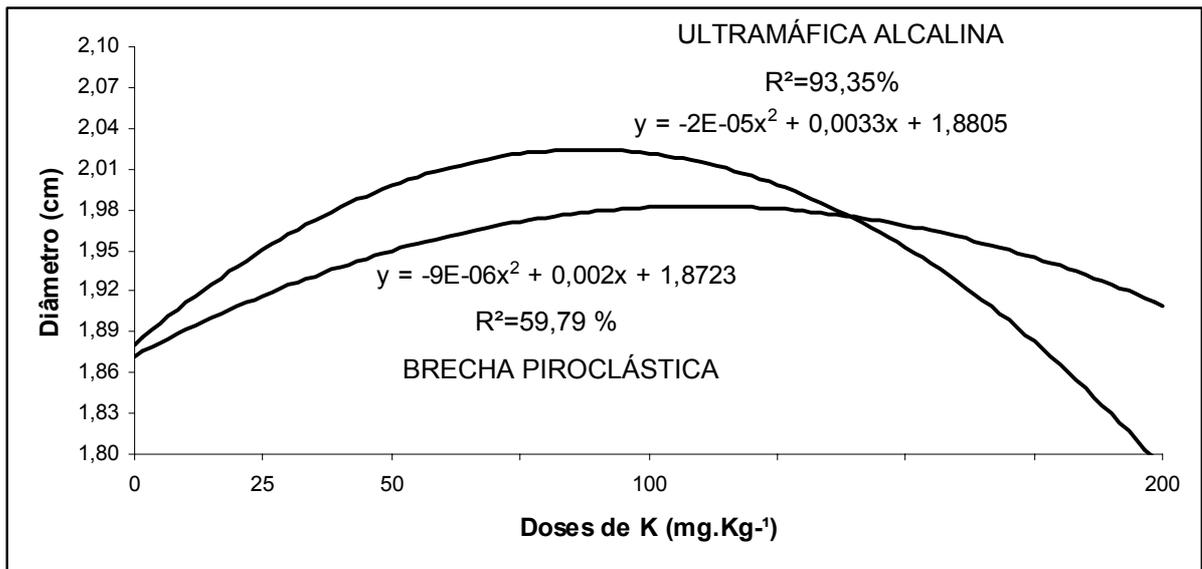
Letras iguais nas colunas indicam ausência de diferença estatística pelo teste Scot-Knott a 5%.

MFPA= Massa da parte aérea fresca, MSPA= Massa da parte aérea seca, MFR= Massa raiz fresca, MSR= Massa raiz seca, ALT 30= Altura aos 30 dias após a semeadura, DIA 90= Diâmetro aos 90 dias após a semeadura, Nº ESP= Número de esporos/ 50 mL de substrato.

FL= flogopitito; CA= carbonatito; BP= brecha piroclástica; UA= ultramáfica alcalina; BX= biotita xisto; KCl= cloreto de potássio

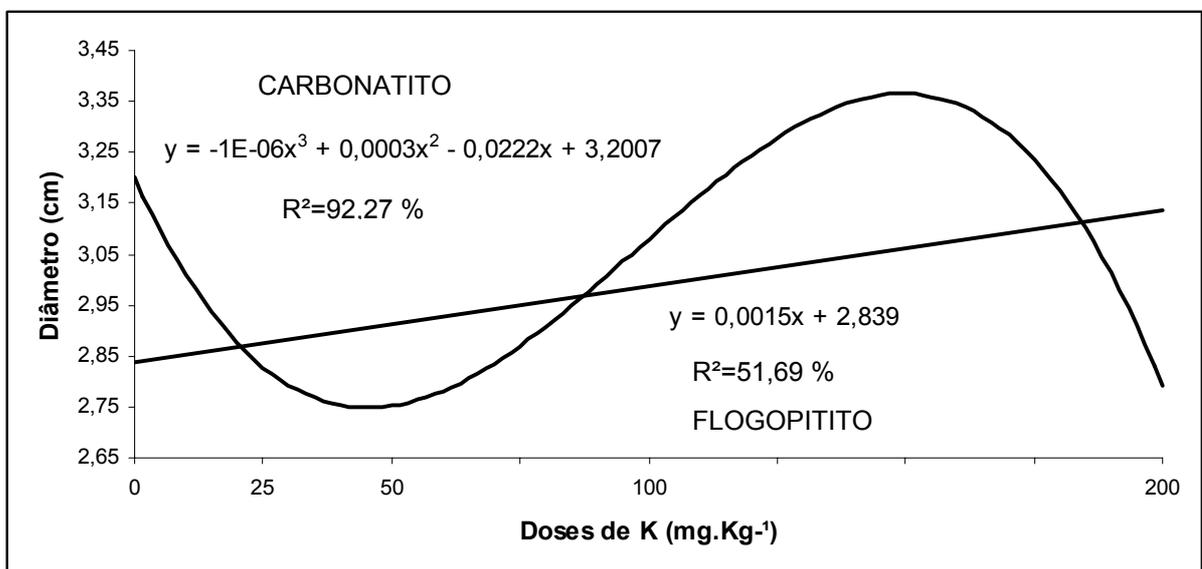
**Tabela 8:** Análise do substrato após coleta do experimento, 90 dias após a semeadura

Doses/rochas mg de K.Kg <sup>-1</sup>	pH	Al	Ca	Mg	K mg/dm <sup>3</sup>
DOSE O	6,8	0,0	1,3	0,2	100
Flogopitito					
25	7,1	0,0	3,9	0,3	150
50	6,9	0,0	6,2	1,3	130
100	6,8	0,0	8,0	0,2	160
200	6,8	0,0	1,2	0,2	190
Brecha piroclástica					
25	7,0	0,0	1,3	0,2	140
50	6,8	0,0	8,1	1,3	110
100	6,8	0,0	8,1	0,2	200
200	7,1	0,0	7,7	0,2	190
Biotita xisto					
25	6,6	0,0	6,2	0,2	340
50	5,8	0,0	7,7	1,4	180
100	6,9	0,0	1,4	0,2	150
200	7,0	0,0	7,8	0,2	200
Carbonatito					
25	6,6	0,0	8,3	0,1	160
50	7,1	0,0	6,3	1,4	150
100	6,8	0,0	1,4	0,2	280
200	7,0	0,0	1,4	1,6	330
Ultramáfica alcalina					
25	6,7	0,0	7,9	0,2	130
50	6,9	0,0	6,6	0,2	170
100	6,5	0,0	5,3	0,2	140
200	7,1	0,0	7,5	1,5	210
KCl					
25	7,1	0,0	7,7	1,5	130
50	6,9	0,0	1,4	0,2	80
100	7,0	0,0	2,9	1,6	130
200	7,1	0,0	1,3	0,1	130



**Figura 5:** Diâmetros das mudas de *E. contortisiliquum* 30 dias após a semeadura em substrato com doses das rochas ultramáfica alcalina (UA) e brecha piroclástica (BP).

Pode-se observar através da figura 5 que a fonte de K ultramáfica alcalina, através do modelo quadrático, apresentou valores significativos em relação à interação fonte de K e doses onde o ponto máximo em relação às medições de diâmetro aos 30 dias, se deu pela aplicação de 82,5 mg.kg<sup>-1</sup> de K. Para a brecha piroclástica o melhor ajuste também se deu através do modelo quadrático onde o ponto máximo se deu pela aplicação de 111,1 mg.kg<sup>-1</sup> de K.

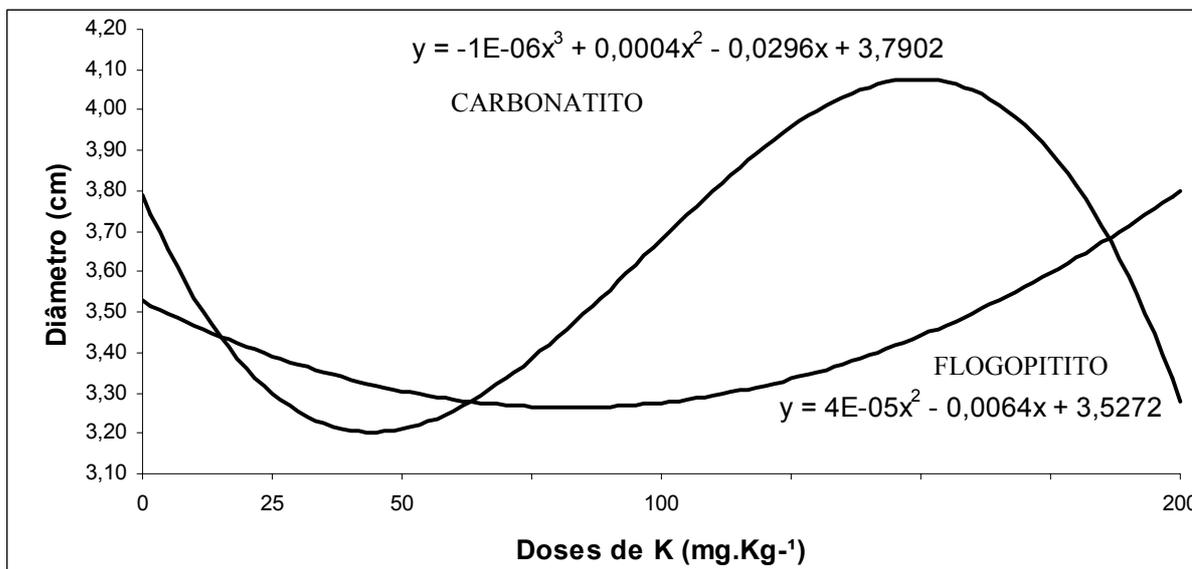


**Figura 6:** Diâmetros das mudas de *E. contortisiliquum* 60 dias após a semeadura em substrato com doses das rochas carbonatito (CA) e flogopitito (FL).

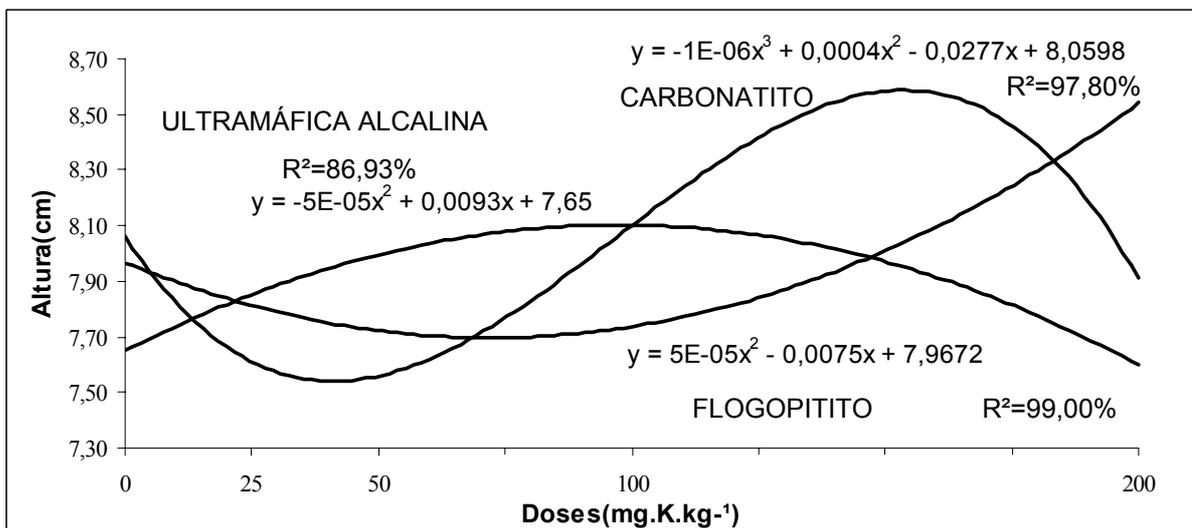
Na figura 6 observa-se que a fonte de K carbonatito apresentou melhor ajuste através do modelo cúbico mostrando variabilidade do efeito de doses de K. O mesmo efeito foi verificado aos 90 dias (Figura 6). Já para o flogopitito o melhor ajuste se deu através do

modelo linear onde se pode observar que a aplicação de 200 mg de K.Kg<sup>-1</sup> ainda não mostrou os máximos valores em diâmetro o que também pode ser observado aos 90 dias onde o modelo que melhor se ajustou foi o modelo quadrático (Figura 7).

Em estudos de liberação de potássio das rochas potássicas carbonatita, biotita xisto e brecha piroclástica realizado por SCHUNKE et. al. 2006, o carbonatito aumentou o pH do solo além de ser a rocha que apresentou maior liberação de K.



**Figura 7:** Diâmetros das mudas de *E. contortisiliquum* 90 dias após a semeadura em substrato com doses das rochas carbonatito (CA) e flogopitito (FL).

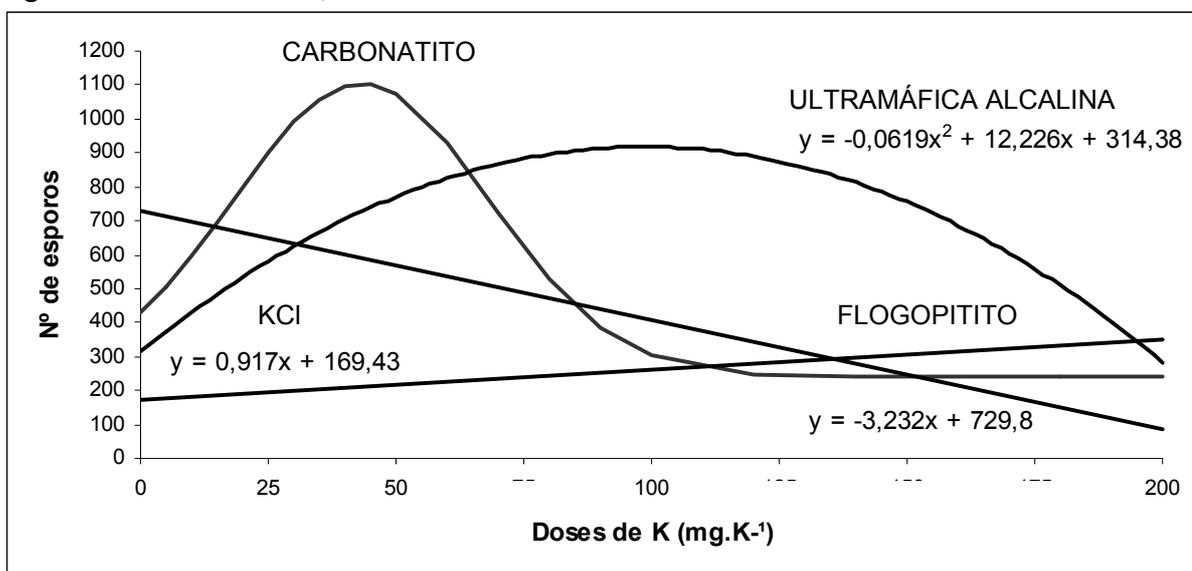


**Figura 8:** Alturas das mudas de *E. contortisiliquum* 30 dias após a semeadura em substrato com doses das rochas carbonatito (CA), ultramáfica alcalina (UA) e flogopitito (FL).

Em relação à altura das mudas de *E. contortisiliquum* 30 dias após a semeadura, houve diferença significativa para as rochas carbonatito, ultramáfica alcalina e flogopitito, onde o melhor ajuste para o carbonatito continuou sendo o modelo cúbico apresentando como ponto

máximo de crescimento em altura (8,6cm) quando foi aplicado 150mg de K. Kg<sup>-1</sup> e o ponto mínimo (7,55cm) na dose 40,9mg de K. Kg<sup>-1</sup>. O melhor modelo para o flogopitito e para a ultramáfica alcalina foi o quadrático, sendo que para a ultramáfica alcalina o ponto máximo em altura foi obtido através da aplicação de 93mg de K.Kg<sup>-1</sup>, já em relação ao flogopitito a curva seguiu o mesmo comportamento quadrático, porém, foi observado que nos diâmetros de 60 e 90 dias a aplicação de 200mg de K.Kg<sup>-1</sup> não obteve o máximo crescimento em altura. Mesmo não demonstrando significância através da análise estatística foi observado o mesmo comportamento para as medições de altura aos 60 e 90 dias após a semeadura.

OLIVEIRA et. al., 2006, verificaram em trabalho realizado com a cultura da soja uma resposta significativa à aplicação dessas mesmas fontes de K, onde as maiores produtividades foram verificadas para a adubação residual com as rochas ultramáfica alcalina e biotita, seguidas do KCl e da brecha no solo argiloso e da ultramáfica alcalina e do carbonatito, seguidas da biotita e KCl, no solo arenoso.



**Figura 9:** Densidade de esporos encontrada no substrato com doses das rochas carbonatito (CA), flogopitito (FL) e ultramáfica alcalina (UA), após a coleta do experimento com mudas de *E. contortisiliquum*.

Em relação à densidade de esporos houve diferença significativa entre as diferentes fontes de K, para a ultramáfica alcalina, flogopitito, carbonatito e brecha piroclástica apresentaram as maiores médias. Para a interação entre as fontes de K e as doses aplicadas as rochas carbonatito, flogopitito e ultramáfica alcalina (Figura 9) mostraram diferença significativa em relação as demais fontes de K aplicadas inclusive a testemunha onde foi aplicada a fonte solúvel KCl utilizada no gráfico como comparação, seguindo tendência contrária as demais fontes de K onde a medida que se aumentou a dose de KCl houve um aumento no número de esporos. Para a fonte de K e flogopitito o melhor ajuste da regressão se deu através do modelo linear onde o aumento da dose de K resultou em uma diminuição do número de esporos. O melhor ajuste para a fonte de K ultramáfica alcalina foi o modelo quadrático apresentando como ponto máximo em número de esporos a dose de 98,8mg de K.Kg<sup>-1</sup>. E para o carbonatito foi o modelo dado pelo programa *Table curve linear equations* através da curva de Gaussian.

## 5. CONCLUSÕES

O solubilizador isolado 4 se mostrou como mais promissor na solubilização de rochas potássicas disponibilizando mais potássio para o meio e tornando o pH do meio de cultura mais básico, sendo utilizado na inoculação do experimento com *E. contortisiliquum*.

As rochas potenciais para a produção de mudas de *E. contortisiliquum* são carbonatito, flogopitito e ultramáfica alcalina mostrando diferenças significativas entre as demais fontes de K.

Em relação às doses aplicadas houve muita variação não sendo possível dizer qual a melhor dose para a produção de mudas de *E. contortisiliquum*, necessitando um novo experimento com substrato preparado com menores teores de K para que o efeito das doses de K possa ser computado e possamos identificar diferenças significativas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, L.R.M. de; MARTINS, E. de S.; MENDES, I. de C. **Carbonatites as a natural nutrient source for Cerrado soil fertilization**. In: WSSS (ed.) 27 th World Congress of Soil Science. Blangokok, Thailand, 2002. 1-10, 2002.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Brasil: consumo aparente de fertilizantes**. Jan. a out. de 2002.
- ATLAS DE SANTA CATARINA. Florianópolis, Gabinete de Planejamento e Coordenação Geral, 1986. 176p.
- AZCÓN, R.; EL-ATRASH, F. **Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphorus fertilization on growth, nodulation and N<sub>2</sub> fixation (<sup>15</sup>N) in Medicago sativa at four salinity levels**. Biology and Fertility of Soils, New York, v. 24, n. 1, p. 81-86, Jan. 1997.
- AZCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J. M. **Effects of interactions between different culture fractions of “phosphobacteria” and rhizobium on mycorrhizal infection, growth and nodulation of Medicago sativa**. Canadian Journal of Microbiology, Ottawa, v. 24, n.5, p.520-524, 1978.
- BARRETO, S. B. **A farinha de rochas MB-4 e o solo**. 1998.
- BOLAN, N. S. **A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants**. Plant and Soil, Dordrecht, v. 134, n. 2, p.189-207, Jul. 1991.
- BRADY, N.C.; **Natureza e Propriedades dos Solos**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Editora Freitas Bastos, 1989. 878p.
- BUMB, B. L.; BAANANTE, C. A. **World trends in fertilizer use and projections to 2020**. In: INTERNATIONAL FOOD POLICY RESEARCH INSTITUTE. 2020 Vision for food, agriculture, and the environment: brief 38. Oct. 1996.
- CAMPELLO, E.C.F. **Sucessão vegetal na recuperação de áreas degradadas**. In: DIAS, L. D.; MELLO, J. W. V. Recuperação de Áreas Degradadas, Viçosa: UFV. Sociedade brasileira de recuperação de áreas degradadas, 1998. p. 183-196.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. v.1, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, 2003. p.885-892.
- CHABOT, R.; ANTOUN H.; CESCAS, M. P. **Stimulation de la croissance du maïs et la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique**. Canadian Journal of Microbiology. Ottawa, v. 39, n.10, p. 941-947, Oct. 1993.
- DOBEREINER, J. **Efeito da inoculação de sementeira de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia*) no estabelecimento e desenvolvimento das mudas no campo**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, RJ, 2: 301-305, 1967.

EIRA, M. T. S.; FREITAS, R. W. A.; MELLO, C. M. C. **Superação da dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong – Leguminosae** – Revista Brasileira de Sementes, v. 15, nº 2, p. 177-181, 1993.

FARIA, S. M. **Obtenção de estirpes de rizóbio eficientes na fixação de nitrogênio para espécies florestais**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, Jan. 2002, p.16 (Embrapa-CNPAB. Documentos, 134).

FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. 2006. Viçosa – MG: Sociedade Brasileira de Ciência do solo. 432 p.

FERREIRA DF. 1999. Programa Sisvar Versão 4.6 (Build 61), 1999. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/danielff/dff02.htm>>. Acesso em: 27 mar. 2005.

FRANCO, A. A.; CAMPELLO, E. F. C.; SILVA, E. M. R.; FARIA, S. M.; **Revegetação de solos degradados**. Brasília: Embrapa – CNPS, 1992, 8p. (Embrapa-CNPS, Comunicado Técnico, 9)

FRANCO, A.A.; FARIA, S.M. de.; CAMPELLO, E.F.C. & SILVA, E.M.R. da. **Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico**. In ESTEVES, F.A. (editor), Oecologia Brasiliensis. Estrutura, funcionamento e manejo de ecossistemas brasileiros. v.1, 1995. p.459-467.

FRANCO, A.A & FARIA, S.M. **The contribution of N<sub>2</sub>-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics**. Soil Biol. Biochem. v. 29, p. 897-903, 1997.

FEIDEN, A.; **Conceitos e Princípios para o Manejo Ecológico do Solo**. Seropédica. Embrapa Agrobiologia, dez. 2001. (Embrapa Agrobiologia, Documentos, 140).

GAIAD, S.; CARPANEZZI, A. A. **Ocorrência de *Rhizobium* em leguminosas de interesse silvicultural para a região sul**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 19 (s/n). 155-158, 1984.

GAMA, H. B. **Lama de serraria de granito na agricultura orgânica**. Revista Agroecologia, 2003 p. 24.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. **Spores of mycorrhizal endogone species extracted from Transaction of the British Nycological Society, soil by wit sieving and decanting**. Trans. Br. Mycol. Soc., London, v.46, p.235-244, 1963.

GRACE, C. & D. P. STRIBLEY. 1991. **A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular ycorrhizal fungi**. Mycological Research, 95 (9): 1160-1162.

HARLEY, J.L.; **The signifcate of mycorrhiza**. Mrcological Research, v. 92, n.2, p. 129-139, 1989.

JENKINS, W.R. **A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil**. Plant Desease Report, Beltsville, v. 48, p.692, 1964.

JOHNSON, N. C. & F. L. PFLEGER. 1992. **Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses**. p. 71-97. In G. J. Bethlenfalvay & R. G. Linderman. (Ed.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA/CSSA/SSSA, Madison. 124 p.

KOSKE, R. E. & J. N. GEMMA. 1989. **A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas**. *Mycological Research*, 92 (4): 486-488.

KUCEY, R. M. N. **Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils**. *Canadian Journal of Soil Society*. Ottawa, v.63, n. 4, p. 671-678, Dec. 1983.

LEITE, P. da C.; LOPES, A. S. **Efeito de tratamentos térmicos em misturas de verdete de Abaeté, fosfato de Araxá e calcário magnésiano, na disponibilidade de potássio e fósforo**. Lavras, ESAL, 1985. 146p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Ed. Plantarum Ltda, 1992. 352 pg.

MACHADO, C. T. T.; RESENDE, A. V.; MARTINS, E. S. et al. Potencial de rochas silicáticas no fornecimento de potássio para culturas anuais: II fertilidade do solo e suprimento de outros nutrientes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30., Recife, 2005. **Resumos...** Recife, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2005. CD-ROM.

MACHADO, C. T. T.; RESENDE, A. V.; NASCIMENTO, M. T.; REZENDE A. V. MARTINS, E. S., SENA M. C. de; SILVA L. C. R. Extratores para potássio em solo adubado com pó de rochas silicáticas. In: *Fertbio 2006 – A busca das raízes*, Bonito, MS. **Anais**

MANJUNATH, A.; BAGYARAJ, D.J. & COPALA GOWDA, H. S. **Dual inoculation with VA mycorrhiza and Rhizobium is beneficial to Leucena**. *Plant and soil*. The Hague, 78: 445-448, 1984.

MARRIEL, I. E.; COELHO, A. M.; GUIMARÃES, P.S.; SOARES, E. M.; NONATO, L. F. V.; OLIVEIRA, C. A, V. M. C. Seleção de isolados de fungos biossolubilizadores de rochas silicáticas in vitro. In: *Fertbio 2006 – A busca das raízes*, Bonito, MS. **Anais**

MARTINS, E. de S. **Estudos de cinética química de dissolução de minerais de rochas de complexos carbonatíticos**. In: Andrade et al. *Avaliação de fontes alternativas para correção de acidez e adubação do solo sob cerrado*. Planaltina: Embrapa Cerrados Programa 01. Subprojeto 01. 1999. 338-01 (Relatório Técnico, 2001), 2002.

McGONIGLE, T. P.; MILLER, M. H.; EVANS, D. G.; FAIRCHILD, G. L.; SWAN, J. A. A.; **A new method which give an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi**. *The New Phytologist*. v.115, n. 3, p. 495-501, 1990.

MOREIRA, F. M. S. & J. O. SIQUEIRA. 2002. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 523 p.

OLIVEIRA, L. A. M. de; Souza, A. E. de. **Balanço Mineral Brasileiro 2001: potássio DNPM/SE**, Brasília, v. 21. P. 95 - 96, 2001.

OSTERROHT, M. V. **Rochagem Para Quê?** Revista Agroecologia, 2003. p.12-15. PEDINI, S. Apostila de cafeicultura orgânica. Esacma, Escola Superior de Agricultura e Ciências de Machado. Machado, MG. 2000.

PEDINI, S. **Apostila de cafeicultura orgânica.** Esacma, Escola Superior de Agricultura e Ciências de Machado. Machado, MG. 2000.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, O.S. **Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection.** Tran. Br. Mycol. Soc., London, v.55, p.158-161, 1970.

RUIZ-LOZANO, J. M.; COLLADOS, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN, R. **Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-induced nodule senescence in soybean plants.** New Phytologist, Cambridge, v. 151, n.2, p. 493-502, Aug. 2001.

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

SILVA, J. E. da; RITCHEY, K. D.; LOBATO, E.; GOEDERT, W. J. **Potássio em solo de Cerrado II.** Balanço do solo. Revista Brasileira de Ciência do solo, Campinas, v. 3, n. 1, p. 33-36, jan./abr. 1979.

SYLVESTER-BRADLEY, R. ; ASKAWA, N.; LATORRACA, S.; MAGALHÃES, F.M.M.; OLIVEIRA, L.A.; PEREIRA, R.M. **Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fosfato na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia.** Acta Amazônica, Manaus, v. 12, n° 1, p. 12-22, jan./mar. 1982.

SOUCHIE, E. L. **Microrganismos Solubilizadores de Fosfato e Fungos Micorrízicos Arbusculares em Leguminosas Fixadoras de Nitrogênio.** 122 p. UFRRJ, 2004. (Tese de Doutorado).

TRAPPE, J.M. **Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from evolutionary standpoint.** In: SAFIR, G.R. Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. Boca raton: CRC Press, 1987. P. 5-25.

VASCONCELOS, I.; ALMEIDA, R. T. de; FILHO, P. F. M.; **Ocorrência de rizóbios e endomicorrizas em leguminosas arbóreas e arbustivas do estado do Ceará, Brasil.** Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, n. 15, p.45-52, dez. 1984.

VILELA, L.; SOUSA, D. M. G. de; SILVA, J.E. da. **Adubação potássica.** In: SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. (Ed.). Cerrado: correção do solo e adubação. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2002. P. 169-183.

ANEXO 1A: Quadrado médio da análise de variância e coeficiente de variação do diâmetro de colo aos 30, 60 e 90 dias (D30, D60 e D90), altura da parte aérea aos 30, 60 e 90 dias (H30, H60 e H90), peso da massa fresca seca da parte aérea (MFPA), peso da massa seca da parte aérea (MSPA), peso da massa fresca do sistema radicular (MFR), peso da massa seca do sistema radicular (MSR), colonização micorrízica (CM) e número de esporos do substrato (DE) de mudas de *E. contortisilquum*, aos 90 dias após a sua semeadura

FV	Gl	D30	D60	D90	H30	H60	H90
Rochas	5	0,8251 <sup>n.s</sup>	0,1251 *	0,0093 *	0,0172 *	0,2551 <sup>n.s</sup>	0,2220 <sup>n.s</sup>
Doses	4	0,0111 *	0,1980 <sup>n.s</sup>	0,0765 <sup>n.s</sup>	0,0504 <sup>n.s</sup>	0,6086 <sup>n.s</sup>	0,0567 <sup>n.s</sup>
Rochas.Doses	20	0,0335 *	0,0199 *	0,0067 *	0,0004 *	0,1209 <sup>n.s</sup>	0,1702 <sup>n.s</sup>
CV (%)		5,03	9,69	8,92	5,00	9,95	14,19

FV	Gl	MFPA	MSPA	MFR	MSR	CM	DE
Rochas	5	0.0003 *	0,0130 *	0,0055 *	0,0069 *	0,0615 <sup>n..s</sup>	0,042 *
Doses	4	0.3690 <sup>n.s</sup>	0.3447 <sup>n.s</sup>	0,2023 <sup>n.s</sup>	0,5169 <sup>n.s</sup>	0,2327 <sup>n.s</sup>	0,048 *
Rochas.Doses	20	0.2651 <sup>n.s</sup>	0.0561 <sup>n.s</sup>	0,1923 <sup>n.s</sup>	0,4051 <sup>n.s</sup>	0,2705 <sup>n.s</sup>	0,001 *
CV (%)		28.65	30,06	28,85	38,88	15,15	91,91

Gl = grau de liberdade.

<sup>n.s.</sup> não significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

\*significativo ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.