

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Tauris Santos Rangel

**USO DE VERMICOMPOSTO COM DIFERENTES TEMPOS DE
MATURAÇÃO E MICORRIZAÇÃO NA FITORREMEDIAÇÃO DE
COBRE POR *Canavalia ensiformis* EM SOLO ARENOSO DE VINHEDO**

Santa Maria, RS
2021

Tauris Santos Rangel

**USO DE VERMICOMPOSTO COM DIFERENTES TEMPOS DE MATURAÇÃO E
MICORRIZAÇÃO NA FITORREMEDIAÇÃO DE COBRE POR *Canavalia ensiformis*
EM SOLO ARENOSO DE VINHEDO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Área de Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Ambiental**.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Andressa de Oliveira Silveira
Co-orientador: Prof Dr. Natielo Almeida Santana

Santa Maria, RS
2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Rangel, Tauris

Uso de vermicomposto com diferentes tempos de maturação e micorrização na fitorremediação de cobre por *Canavalia ensiformis* em solo arenoso de vinhedo / Tauris Rangel.- 2021.

58 p.; 30 cm

Orientadora: Andressa de Oliveira Silveira Coorientadora:

Natielo Almeida Santana

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, RS, 2021

1. Feijão de porco 2. *Rhizoglyphus clarum* 3. Amenizante 4. Fitoestabilização 5. Fitorremediação I. de Oliveira Silveira, Andressa II. Almeida Santana, Natielo III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

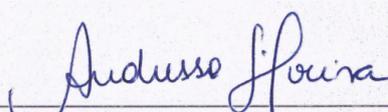
Declaro, TAUIRIS RANGEL, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Tauris Santos Rangel

**USO DE VERMICOMPOSTO COM DIFERENTES TEMPOS DE MATURAÇÃO E
MICORRIZAÇÃO NA FITORREMEDIAÇÃO DE COBRE POR *Canavalia ensiformis*
EM SOLO ARENOSO DE VINHEDO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Área de Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Ambiental**.

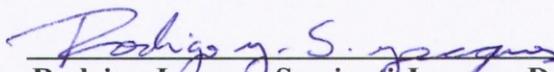
Aprovado em 19 de novembro de 2021:



Andressa de Oliveira Silveira, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Natíelo Almeida Santana, Dr. (UFSM)
(Coorientador)



Rodrigo Josemar Seminoff Jacques, Dr. (UFSM)



Valéria Ortaça Portela, Dra. (Rizo-Bio)

Santa Maria, RS
2021

AGRADECIMENTOS

Ao trabalho em si que ampliou minha percepção a respeito da importância da ciência para a sociedade.

À professora Andressa de Oliveira Silveira pela orientação, apoio e confiança no desenvolvimento desse trabalho.

Ao professor Natielo Almeida Santana pela co-orientação, paciência na transferência de saberes e presença em todas as etapas na realização desse trabalho.

À minha família por compreender os momentos em que não pude estar presente e pelo apoio e orgulho que sempre demonstram ao me ver trilhar esse caminho.

Aos meus amigos e colegas Flávia Ziani, Cácio Andres, Júlia Konrad, Kelly Santos, Brenda Franco, Bruno Schina, Fabiana Pimentel e Bruna Minetto pela companhia durante a fase da estrita, tornando-a mais leve e até mesmo divertida.

Aos colegas de laboratório que me ajudaram durante a realização das análises, em especial ao Rodrigo Ferraz Ramos e ao Douglas Scheid.

À CAPES pela oportunidade de realização do curso de Mestrado mediante concessão de estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental e à Universidade Federal de Santa Maria pela estrutura fornecida para realização desse trabalho e pelo meu desenvolvimento pessoal e profissional.

*“Mas é preciso ter manha, é preciso ter graça
É preciso ter sonho sempre
Quem traz na pele essa marca possui
A estranha mania de ter fé na vida”*

(Milton Nascimento)

RESUMO

USO DE VERMICOMPOSTO COM DIFERENTES TEMPOS DE MATURAÇÃO E MICORRIZAÇÃO NA FITORREMEDIAÇÃO DE COBRE POR *Canavalia ensiformis* EM SOLO ARENOSO DE VINHEDO

AUTOR: Tauris Santos Rangel
ORIENTADORA: Andressa de Oliveira Silveira
COORIENTADOR: Natielo Almeida Santana

A adição de vermicomposto e a micorrização das plantas podem aumentar significativamente a eficiência da fitorremediação em solos arenosos de vinhedos contaminados por cobre (Cu). No entanto, o tempo de vermicompostagem altera propriedades químicas, físicas e biológicas do vermicomposto e estas podem afetar a sua eficiência como amenizante na fitorremediação. O objetivo desse estudo foi avaliar a interação entre vermicompostos com diferentes tempos de maturação e a inoculação com fungo micorrízico na fitorremediação de Cu por *Canavalia ensiformis* de um solo arenoso de vinhedo contaminado com este metal. O solo foi contaminado em laboratório com 100 mg kg⁻¹ de Cu. O solo foi adicionado de adubo mineral (MIN), esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e alta maturação (VAM), correspondendo a 40 mg kg⁻¹ de fósforo (P) via vermicomposto, com e sem a inoculação com fungo micorrízico arbuscular *Rhizogloium clarum*. A planta *C. ensiformis* foi cultivado em casa de vegetação, e no florescimento foram determinadas a biomassa e as concentrações de Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, P e K no solo, na solução do solo e no tecido vegetal, além dos pigmentos fotossintéticos e atividade de enzimas de estresse oxidativo. A adição dos três adubos orgânicos aumentou a produção de massa seca de raiz e parte aérea da planta. A inoculação com o FMA aumentou a produção de massa seca de raízes e de nódulos nos tratamentos com adubos orgânicos, aumentando a quantidade de Cu acumulada por vaso e a eficiência da fitoestabilização. A adição de VAM, em especial, aumentou a absorção de Cu pela planta além de amenizar os efeitos tóxicos do metal nas plantas micorrizadas. O uso combinado de vermicomposto de alta maturação e FMA é uma estratégia para aumentar a fitoestabilização do Cu por *C. ensiformis* em solo arenoso.

Palavras-chave: Feijão de porco. *Rhizogloium clarum*. Amenizante. Fitoestabilização.

ABSTRACT

USE OF VERMICOMPOSTS WITH DIFFERENT MATURATION TIMES AND MYCORRIZATION IN COPPER PHYTORREMEDICATION BY *Canavalia ensiformis* IN SANDY SOIL OF VINEYARD

AUTHOR: Tauris Santos Rangel
ADVISOR: Andressa de Oliveira Silveira
CO ADVISOR: Natielo Almeida Santana

The addition of vermicompost and the mycorrhization of plants can significantly increase the efficiency of phytoremediation in sandy soils of vineyards contaminated by copper (Cu). Vermicomposting time alters chemical, physical and biological properties of the vermicompost and these can affect its efficiency as a mitigating agent in phytoremediation. The aim of this study was to evaluate the interaction between vermicompost with different maturation times and inoculation with mycorrhizal fungus in the phytoremediation of Cu by *Canavalia ensiformis* in a sandy vineyard soil contaminated with this metal. The soil was contaminated in the laboratory with 100 mg kg⁻¹ of Cu. The soil was added with mineral fertilizer (MIN), cattle manure (CM), low (LMV) and high maturation (HMV) vermicompost, corresponding to 40 mg kg⁻¹ of phosphorus (P) via vermicompost, with and without inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizoglonus clarum*. The plant *C. ensiformis* was cultivated in a greenhouse, and at flowering the biomass and concentrations of Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, P and K in the soil, in the soil solution and in the plant tissue were determined, in addition to the photosynthetic pigments and oxidative stress enzyme activity. The addition of the three organic fertilizers increased the production of root and shoot dry mass of the plant. Inoculation with AMF increased the production of dry mass of roots and nodules in treatments with organic fertilizers, increasing the amount of Cu accumulated per pot and the efficiency of phytostabilization. The addition of VAM, in particular, increased the absorption of Cu by the plant in addition to mitigating the toxic effects of the metal in mycorrhizal plants. The combined use of organic fertilizers and AMF is a strategy to increase the phytostabilization of Cu by *C. ensiformis* in sandy soil.

Keywords: Jack beans. *Rhizoglonus clarum*. Sooting. Phytostabilization.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS.....	13
1.1.1 Objetivos gerais	13
1.1.2 Objetivos específicos.....	13
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO	14
2.1 CONTAMINAÇÃO DE SOLOS DE VINHEDO POR COBRE.....	14
2.2 ATRIBUTOS DO SOLO QUE REGULAM A DISPONIBILIDADE DO COBRE.....	15
2.3 EFEITOS FITOTÓXICOS DO COBRE SOBRE AS PLANTAS	16
2.4 TÉCNICAS DE FITORREMEDIAÇÃO	17
2.5 FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES NA FITORREMEDIAÇÃO	20
2.7 INTERAÇÃO ENTRE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E ADUBOS ORGÂNICOS NA FITORREMEDIAÇÃO	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1 SOLO.....	24
3.2 VERMICOMPOSTO	24
3.3 FUNGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR	25
3.4 CULTIVO DAS PLANTAS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	25
3.5 CRESCIMENTO, MICORRIZAÇÃO E ELEMENTOS QUÍMICOS NA PLANTA	25
3.6 ELEMENTOS QUÍMICOS NA SOLUÇÃO E NO SOLO	26
3.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO TECIDO VEGETAL	26
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	27
4 RESULTADOS	28
4.1 ATRIBUTOS QUÍMICOS DO VERMICOMPOSTO	28
4.2 COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E MASSA SECA DE NÓDULOS	29
4.3 CRESCIMENTO E TEOR DE NUTRIENTES E COBRE DA PLANTA.....	30

4.4 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E ATIVIDADE DE ENZIMAS DE ESTRESSE OXIDATIVO.....	34
4.5 ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO.....	37
4.6 CORRELAÇÃO E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	39
5 DISCUSSÃO	42
6 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Apesar de ser apenas o 120º elemento mais tóxico para a saúde humana de acordo com a ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) do Departamento de Saúde dos Estados Unidos, o cobre (Cu) é um dos metais mais tóxicos para as plantas. Entre os efeitos fitotóxicos já observados em estudos sobre o tema estão: maior resistência estomática, uso menos eficiente da água, encurtamento e aumento do diâmetro radicular e queda na taxa de captação de nutrientes. Tais anomalias resultam em perda de biomassa e até na morte da planta (MICHAUD et al., 2008; AMBROSINI et al., 2018; TRENTIN et al., 2019).

A disponibilidade de Cu, que implica na intensidade com que esses efeitos ocorrem nas plantas, é maior em solos arenosos com baixos teores de óxidos e de matéria orgânica, como os observados na Campanha Gaúcha. Esta é a atual região de expansão da vitivinicultura no Rio Grande do Sul (RADÜNZ et al., 2015), tendo como prática de manejo das videiras a aplicação de um fungicida cúprico denominado calda bordalesa para o controle de doenças foliares. Essa prática tem causado a contaminação da camada superficial do solo em vários vinhedos. Isso prejudica o estabelecimento e o desenvolvimento de mudas de videira e plantas de cobertura que, devido ao sistema radicular raso, estão mais expostas a contaminação em relação a videiras antigas (FERREIRA et al., 2018a; TRENTIN et al., 2019). Como consequência, tem-se perdas ambientais, sociais e econômicas que precisam ser remediadas.

Em relação às possíveis técnicas de remediação, a fitorremediação é uma biotecnologia de baixo custo, reduzido impacto ambiental e de grande aceitação pública. Em grande parte, tais vantagens se devem ao elevado potencial fitorremediador apresentado por plantas de cobertura como o feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) (VENDRUSCOLO, 2013; VENDRUSCOLO et al., 2018), já cultivada em áreas agrícolas para amenizar processos erosivos e melhorar a qualidade do solo (MORAES et al., 2016).

Diversos estudos publicados recentemente demonstraram que o uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e vermicomposto associados às plantas fitorremediadoras são ferramentas eficientes para a fitorremediação do Cu (SANTANA et al., 2015; MALLMANN et al., 2016; SANTANA et al., 2018; SANTANA et al., 2019). A interação entre ambos ameniza a toxicidade frente ao excesso de Cu no tecido das plantas, melhora aspectos nutricionais e contribui para o crescimento e aumento do potencial fitorremediador. Os FMAs formam associação simbiótica com as plantas, prolongando o alcance das raízes no solo através das hifas fúngicas. Isso aumenta a captação de nutrientes pelos sítios de troca das raízes. A capacidade desses organismos de complexar o Cu nos tecidos fúngicos pode diminuir a

quantidade de Cu que chega até o xilema e é translocada para a parte aérea da planta. Esse e outros mecanismos desenvolvidos pelos FMAs frente a contaminação amenizam os efeitos tóxicos do Cu e estimulam o crescimento da planta. Por outro lado, é preciso considerar que a ação do FMA irá depender de fatores como as condições ambientais, espécie de planta, nível de metal e teor de nutrientes no solo (TIWARI et al., 2020).

A disponibilidade de elementos (complexação ou mineralização de metais e nutrientes) no solo pode ser influenciada pela interação entre vermicomposto e FMA durante a fitorremediação, podendo estimular ou inibir a colonização micorrízica. Embora o vermicomposto tenha demonstrado aumentar a fitorremediação, pouco se sabe a respeito da interação entre FMA e vermicompostos com diferentes tempos de maturação (MAJI et al., 2015; MAJI et al., 2016).

O vermicomposto é um fertilizante orgânico obtido pelo processo de vermicompostagem. A vermicompostagem é um processo biológico mediado por minhocas, microrganismos e organismos da mesofauna edáfica que transformam o resíduo orgânico em um adubo biológico vivo. A adição de vermicomposto ao solo aumenta os teores de nutrientes e promove a complexação ou aumento de formas móveis do Cu em solução devido a formação de complexos com compostos orgânicos. Isso pode resultar em maior fitoestabilização ou fitoextração do metal (KARAMI et al., 2011; MALLMANN et al., 2016).

Sabe-se que a duração da vermicompostagem interfere na qualidade do adubo orgânico ou vermicomposto, principalmente pelo incremento de ácidos húmicos de alta maturação que complexam os nutrientes em moléculas orgânicas de alto peso molecular (STEVENSON, 1994). Tais alterações afetam a disponibilidade do Cu na medida que favorecem a complexação pela fração sólida da matéria orgânica podendo superar o aumento das formas solúveis do metal. Isso pode favorecer a fixação do Cu nas raízes ou em zonas próximas, diminuindo a concentração translocada para a parte aérea. Por outro lado, um baixo tempo de maturação pode fornecer um vermicomposto rico em compostos orgânicos solúveis que aumentam a mobilidade do metal no solo e a absorção pela planta.

Dessa maneira, o presente estudo pretende demonstrar que o tempo de maturação do vermicomposto associado à micorrização afeta a forma como a fitorremediação vai ocorrer em solo arenoso, aumentando a fitoestabilização, quando o tempo de maturação for alto, e a fitoextração, quando o tempo de maturação for baixo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos gerais

Avaliar a eficiência da interação entre vermicompostos com diferentes tempos de maturação e a inoculação com fungo micorrízico *Rhizogloium clarum* na fitorremediação do Cu por *Canavalia ensiformis* em solo arenoso.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a disponibilidade de Cu no solo tratado com vermicompostos de diferentes tempos de maturação;
- Quantificar a absorção de Cu pela raiz e parte aérea de *Canavalia ensiformis* e os efeitos da concentração do metal sobre o crescimento e a fisiologia desta planta;
- Conhecer o efeito amenizante exercido pela colonização micorrízica e pelo vermicomposto na fitotoxicidade do Cu em *C. ensiformis*.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 CONTAMINAÇÃO DE SOLOS DE VINHEDO POR COBRE

Baseada em grandes áreas e na aplicação maciça de capital, a Campanha Gaúcha atualmente representa a região de expansão da vitivinicultura no Rio Grande do Sul (RADÜNZ et al., 2015). O estado possui 46 dos 75 mil ha cultivados com videiras no Brasil e produziu 735 mil toneladas de uva em 2020, representando 49 % da produção nacional (IBGE, 2020). O polo vitivinícola da Campanha tem pouco mais de 30 anos e é recente em comparação ao da Serra Gaúcha, onde a vitivinicultura tradicionalmente se estabeleceu no estado com a colonização italiana em 1875 e onde se mantém até hoje baseada na pequena propriedade, na mão de obra familiar, e na utilização de pouco maquinário (PIEROZAN, 2018).

Apesar da diferença histórica, muitos vinhedos da Campanha se originaram da Serra e continuaram sendo manejados de forma muito semelhante, uma vez que mantiveram aplicação de um fungicida cúprico denominada calda bordalesa (CuSO_4). O risco de contaminação dos solos de vinhedos por Cu pode ocorrer pelas aplicações periódicas de calda bordalesa, aspersão unidirecional com grande parte recaindo sobre o solo, pela chuva e até pela decomposição da biomassa vegetal (MIOTTO et al., 2012).

Por serem arenosos e apresentarem baixos teores de matéria orgânica (MO), argila e óxidos, os solos da Campanha Gaúcha apresentam menor capacidade de adsorção do Cu e, portanto, maior potencial de contaminação ambiental. O nível pseudo-total de Cu (Método USEPA) na camada de 0-20 cm em um vinhedo na região foi de 62.5 mg kg^{-1} , enquanto o nível natural de Cu desses solos era de $3,2 \text{ mg kg}^{-1}$ (MIOTTO et al., 2014). Miotto et al. (2017) quantificaram em um Argissolo na Campanha Gaúcha, sob vinhedo com mais de 25 anos de cultivo, uma concentração média total (extraído por $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{HF}$) de Cu de 90 mg kg^{-1} na camada de 0-10 cm, da qual 80 % estava disponível para as plantas. Nesse mesmo solo, sob pastagem natural adjacente ao vinhedo, Giroto (2010) quantificou 14 mg kg^{-1} e o extrator EDTA dessorveu apenas 15 % desse valor. De acordo com Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2009), áreas com teor de Cu superior a 60 mg kg^{-1} sinalizam a necessidade de práticas preventivas, a fim de garantir a manutenção e a funcionalidade do solo, ou corretivas, que visem restaurar a qualidade do solo e promover a sustentabilidade de uma maneira consistente com os outros usos pretendidos.

2.2 ATRIBUTOS DO SOLO QUE REGULAM A DISPONIBILIDADE DO COBRE

Assim como outros metais, o Cu pode aparecer na forma de um íon livre, preso em complexos metálicos químicos ou orgânicos, trocável no complexo coloidal, formando óxidos, carbonato e hidróxidos (geralmente insolúveis), ou ainda sendo o constituinte da estrutura cristalina de minerais primários e secundários (ALLOWAY, 1995). O problema ambiental, no entanto, é causado pelo excesso de Cu em sua forma disponível, que inclui a forma solúvel, como íons livres ou complexos solúveis com outros ligantes orgânicos e inorgânicos, e trocável, íons ligados a fase sólida na forma de complexos de esfera externa. Na forma solúvel o Cu pode ser absorvido pelas plantas e/ou lixiviado no perfil do solo, enquanto na forma trocável ele pode ser trocado por outros íons presentes na solução do solo se tornando disponível para as plantas e/ou para ser lixiviado (MEURER, 2017).

De acordo com o modelo de isotermas de Freundlich e Langmüir, os atributos químicos e físicos do solo que mais contribuem para a adsorção de Cu são carbono (C) orgânico, capacidade de troca catiônica efetiva (CTCe), pH, argila e alumínio total (Al_2O_3) (ARAÚJO, 2000; ARAÚJO et al. 2002). A fração areia, por outro lado, correlaciona-se negativamente com adsorção de Cu em solos tropicais (ALLEONI et al. 2005). Em um sistema de cultivo em vaso usando solo arenoso com baixos teores de óxido e de MO, Santana et al. (2015) observaram que 95 % da dose de 100 mg kg^{-1} de Cu adicionada estava disponível para as plantas após 60 dias de incubação.

O termo MO se refere a todos os compostos que contém C orgânico no solo em diversos estágios de decomposição e interação com as outras fases do solo (mineral, gasosa e solução) (MEURER, 2017). Esses compostos englobam restos de animais e plantas em vários estágios de decomposição, biomoléculas produzidas pela atividade metabólica dos organismos vivos do solo ou de sua biomassa, pela própria biomassa do solo e pelas fezes (humus) de organismos saprófagos (CHRISTENSEN, 1992; MEURER, 2017). Como o Cu é adsorvido preferencialmente a ácidos húmicos, por ligações de esfera interna em anéis quelatos altamente estáveis (BARANCÍKOVÁ; MAKOVNÍKOVÁ, 2003), a disponibilidade e a mobilidade do Cu adsorvido a matéria orgânica dependem da qualidade dessa fração no solo (LEITA et al., 1999; MEURER, 2017).

Os óxidos presentes no solo, como os óxidos de ferro (Fe), alumínio (Al) e manganês (Mn), contribuem significativamente para a imobilização do Cu nos horizontes superficiais. Esses componentes formam complexos de esfera interna com os íons metálicos da solução e protegem as substâncias húmicas associadas a suas partículas, aumentando a estabilidade da

MO. A energia de ligação entre o íon H^+ e os grupos funcionais dos óxidos em geral é muito maior que a energia de ligação do mesmo com os grupos funcionais da MO, os quais já criam cargas negativas em pH relativamente baixo (pH~3,5) (MEURER, 2017).

Por promover a migração do Cu da fase sólida para a solução do solo (ou a sorção do Cu), um pH ácido aumenta as formas disponíveis do Cu, bem como a toxidez desse elemento (SOUZA et al., 2010). Melo et al (2008) observaram que o teor de Cu disponível extraído por $CaCl_2$ foi 97 % maior nas amostras de solo antes da correção do pH pela adição de carbonato de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) de 4,3 para uma faixa entre 6,5 a 7. De fato, ocorre um aumento significativo da adsorção do Cu quando o pH do solo aumenta nessa faixa (CAVALLARO; MCBRIGE, 1984). No entanto, em solos onde o metal está predominantemente ligado a MO (quelados) na fase sólida ou na solução do solo, a correlação entre o pH e a absorção de Cu pelas plantas é baixa (SOUZA et al., 2010).

2.3 EFEITOS FITOTÓXICOS DO COBRE SOBRE AS PLANTAS

O Cu assim como o boro (B), o cloro (Cl), o Fe, o molibdênio (Mo), o Mn, o zinco (Zn) e o níquel (Ni), faz parte do grupo de micronutrientes essenciais às plantas que são naturalmente encontrado no solo em baixas concentrações (MEURER, 2017). A principal função desse micronutriente é fazer parte da estrutura das enzimas vegetais e ativá-las e, em níveis ideais, é cofator de muitas proteínas envolvidas no transporte de elétrons, na fotossíntese, respiração mitocondrial, bem como na metabolização do C e do nitrogênio (N) (YRUELA, 2005; KABATA-PENDIAS, 2001). Entretanto, além de ser um cofator essencial, é também um elemento tóxico para as plantas quando em altas concentrações, podendo comprometer ou até mesmo impedir seu desenvolvimento (MICHAUD et al., 2008; LEQUEUX et al., 2010; CAMBROLLÉ et al., 2015; MALLMANN et al., 2016).

O excesso de Cu no tecido vegetal ocasiona a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) como radical superóxido (O_2^-), peróxido de oxigênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^-), as quais podem provocar a peroxidação lipídica das membranas celulares. Em resposta, as plantas aumentam a produção de enzimas antioxidantes tais como superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT) para aumentar a tolerância da planta frente ao estresse ambiental (SALISBURY; ROSS, 1992; LATEF, 2011). A maior atividade de SOD e CAT pela *Crotalaria juncea* cultivada sob solo arenoso contaminado por Cu apresentou correlação positiva com o aumento da massa seca vegetal (FERREIRA et al., 2015). Por outro lado, Luo

et al. 2020 relataram que a contaminação por Cu inibiu o crescimento e a atividade de enzimas antioxidantes e aumentou o grau de peroxidação lipídica da membrana em *Dysosma versipellis*.

Além de um aumento na atividade de enzimas antioxidantes, outra resposta bioquímica importante da planta ao excesso de Cu no tecido vegetal é uma queda na produção de pigmentos fotossintéticos como clorofila *a* (*Chla*), clorofila *b* (*Chlb*) e carotenoides (CAMBROLLÉ et al., 2015; TIECHER et al., 2017; TRENTIN et al., 2019). Isso afeta a atividade fotossintética, alterando o teor de água na planta e o potencial osmótico, resultando em um desequilíbrio nutricional e consequente redução no crescimento (SCHMIDT et al., 1997; YRUELA, 2005; LATEF, 2011; BRUNETTO et al, 2019).

Na rizosfera a toxicidade do Cu retarda o crescimento, causa ramificação anormal da raiz, espessamento e encurtamento do ápice radicular (MARSCHNER, 1995; SHELDON; MENZIES, 2005; KOPITTKE; MENZIES, 2006). O revolvimento do solo no momento da renovação de vinhedos antigos estimula a mineralização do Cu complexado a MO. Essa prática aumenta a disponibilidade de Cu e pode provocar toxidez nas plantas cultivadas em sucessão (WENG et al., 2002; DE CONTI et al., 2016). Diferentemente das videiras antigas, que apresentam um sistema radicular mais robusto e profundo conseguindo ultrapassar a superfície, as videiras jovens apresentam um sistema radicular mais raso e podem estar mais expostas aos elevados níveis de Cu.

Experimentos conduzidos em casa de vegetação demonstraram que, sob solo de vinhedo com mais de 30 anos de cultivo com uma concentração de Cu disponível de 120 mg kg^{-1} , mudas de porta-enxerto de videira Paulsen 1103 (*Vitis vinífera*) sofreram graves erros na transmissão de sinais moleculares durante a divisão celular, o que resultou no encurtamento e o aumento do diâmetro das raízes (TRENTIN et al., 2019). Ambrosini et al. (2018) observaram encurtamento e aumento do diâmetro rizosférico ao cultivarem mudas de Niágara Vermelha (*Vitis labrusca* L.) não enxertadas obtidas a partir da propagação *in vitro* e gradualmente aclimatada em casa de vegetação sob solo de vinhedos com mais de 80 anos de cultivo. Essa anomalia fisiológica diminuiu a captação de P, Ca, Zn e Fe, o que resultou na subnutrição da planta e menor massa seca da parte aérea.

2.4 TÉCNICAS DE FITORREMEDIAÇÃO

A fitorremediação é definida como um processo natural que faz uso de plantas e microrganismos associados na descontaminação de solos, onde sequestram, degradam ou imobilizam poluentes do solo (PILON-SMITS, 2005). Ela é mais sustentável e

economicamente mais acessível quando comparada às técnicas físico-químicas tradicionais de remediação (SCHWITZGUÉBEL et al., 2017). Além disso, a alta disponibilidade de Cu observada na camada de 0 a 20 cm dos solos arenosos dos vinhedos da Campanha Gaúcha propicia a utilização da fitorremediação (RIZWAN et al., 2018; KIM et al., 2018).

A fitorremediação pode ocorrer através de mecanismos fitodegradação, fitovolatilização, fitoestimulação, fitoextração e fitoestabilização. Estes, por sua vez, correspondem a processos fisiológicos desencadeados pela toxidez do metal nos quais a planta fitorremediadora aumenta a produção de pigmentos da clorofila (como carotenóides e betacarotenoides), de proteínas que aumentam a complexação do metal no citosol (metalotioneínas e fitoquelatinas) e de ácidos orgânicos. Tais mecanismos reduzem a translocação do metal para a parte aérea e outras alterações específicas do metabolismo celular (FERREIRA et al., 2015; NANDA; AGRAWAL, 2016; AMBROSINI et al., 2018).

A fitodegradação é a técnica na qual o contaminante é diretamente absorvido pela raiz da planta e metabolizado na parte aérea, onde é volatilizado ou, então, sofre degradação parcial ou total por atividade enzimática específica no interior da célula vegetal, sendo transformado em um composto menos tóxico (FERRO et al., 1994; VASCONCELLOS et al., 2012). Essa técnica é aplicada a compostos orgânicos, como herbicidas e hidrocarbonetos. O tebutiuron é um exemplo de contaminante em grande parte absorvido e metabolizado a compostos menos tóxicos por algumas espécies de plantas capazes de acumular mais metabólitos e menos moléculas originais do herbicida, evitando que esse composto alcance quantidades fitotóxicas (MCNEIL et al., 1984; JOHNSEN; MORTON, 1991).

A fitovolatilização consiste na volatilização do contaminante através da transpiração da planta em sua forma original ou modificada pelo metabolismo vegetal (VASCONCELLOS et al., 2012; WANG et al., 2012; MALLMANN et al., 2016). O elemento é absorvido pela raiz da planta, transportado pelo xilema e, por fim, é liberado para a atmosfera a partir dos tecidos vegetais. Essa técnica é aplicada a metais pesados com volatilidade relativamente alta, como o mercúrio (Hg) e selênio (Se) que podem ser transformados pelos microrganismos em formas metiladas, menos tóxicas ao meio ambiente (WANG et al., 2012). A fitovolatilização tem aplicação restrita a locais afastados de centros urbanos devido a possibilidade de liberar metais pesados para a atmosfera, ocasionando um novo fator de risco ambiental (PADMAVATHIAMMA; LI, 2007).

A fitoestimulação baseia-se no uso de plantas para estimular a atividade microbiana decompositora pela exsudação de aminoácidos e polissacarídeos que, assim como a maior concentração de microrganismos, também estimulam a degradação de outros componentes do

solo conferindo à planta habilidade rizosférica para a biorremediação. Ela é excelente para decomposição substâncias químicas aromáticas hidrofóbicas (PHAs, BTEX e compostos derivados dos fenóis) aumentando as formas fitodisponíveis que podem ser absorvidas pela planta (VASCONCELLOS et al., 2012). No entanto, as plantas devem ser escolhidas de acordo com sua fotoquímica pois nem todas são capazes de liberar os exsudatos biossurfactantes necessários para aumentar a fitodisponibilidade de poluentes hidrofóbicos e, portanto, sua absorção (SCHWITZGUÉBEL, 2017).

A fitoextração baseia-se na utilização de plantas capazes de acumular altas concentrações de metais pesados no tecido vegetal, os quais são removidos do solo a partir da absorção pelas raízes, translocados e concentrados na parte aérea (FAN et al., 2019). Para seu sucesso é essencial que o solo não apresente altos níveis de contaminação e que a planta seja tolerante ao metal, tenha um sistema radicular abundante, uma taxa de crescimento rápido, potencial de produzir alta biomassa no campo e de acumular, principalmente na parte aérea, elevadas quantidades de metal (MARQUES et al., 2009). Após a remediação, as plantas devem ser colhidas e destinadas corretamente, podendo ter o volume reduzido por compostagem, compactação ou incineração e, posteriormente, serem recicladas (biorremediação) ou depositadas em um aterro sanitário.

A fitoestabilização busca aumentar a absorção ou a precipitação dos metais pesados na raiz ou em zonas próximas as raízes reduzindo a migração do metal para a parte aérea da planta, a movimentação pela erosão e percolação e a possibilidade de contaminação de áreas adjacentes, plantas e animais. Ela é uma alternativa adequada em locais onde o nível de contaminação é alto ao ponto da fitoextração não ser, sozinha, uma abordagem adequada devido ao tempo necessário para a remediação muito longo (WONG, 2003). As plantas fitoestabilizadoras devem ser fáceis de se estabelecer e se manter no campo, crescer rapidamente e ter uma densa cobertura vegetal, ter um sistema radicular abundante que absorva e acumule grandes quantidades do metal pesado (baixa translocação raiz-parte aérea), além de ciclos de vida longos ou capacidade de se autopropagar (BERTI; CUNNINGHAM, 2000; SANTIBÁÑEZ et al., 2008). Junto da fitoextração, a fitoestabilização é um dos processos mais comumente empregados na remediação de metais pesados nos solos (GU et al., 2017; GARCIA et al., 2018).

2.5 FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES NA FITORREMEDIAÇÃO

Os FMAs são organismos heterotróficos que formam uma simbiose mutualística (micorriza) com a maioria das espécies vegetais, na qual auxiliam a planta a absorver nutrientes, água e compostos orgânicos estimuladores do crescimento e proteção a fatores bióticos e abióticos em troca de fotossintatos para seu desenvolvimento (BERTOLAZI et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2010). Tais organismos apresentam crescimento intra e intercelular no córtex da raiz e aumentam o volume de solo explorado pelo sistema radicular e a absorção de micronutrientes, como o Cu e o Zn, que em elevadas concentrações são contaminantes (TRINDADE et al., 2001; BERTOLAZI et al., 2010). Estudos demonstram a ocorrência de FMAs em solos com elevada contaminação por metais pesados como o Cu e o Zn, e o também funcionamento da simbiose micorrízica na fitorremediação (KLAUBERG-FILHO et al., 2005; GU et al., 2017; FERREIRA et al., 2018a).

A micorriza aumenta a resistência da planta ao Cu através de fatores como o acúmulo do metal em órgãos não vitais, por fazer a manutenção da integridade das membranas celulares, pela retenção do metal no micélio fúngico ou em paredes celulares, pelo maior suprimento de fósforo (P) e pela absorção de certos elementos em troca de outros, como no caso do Fe, que pode inibir a absorção de Cu (TRINDADE et al., 2001; TAIZ; ZEIGER, 2013; RUSCITTI et al., 2017). O maior suprimento de P das plantas micorrizadas contribui tanto para aumentar seu crescimento, tendo um efeito de diluição sobre a concentração do Cu tecido vegetal (TRINDADE et al., 2001), como para diminuir a mobilidade e a toxidez do metal para a planta pela formação de complexos fosfato-metal nas raízes (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Além de compartimentalizar o Cu nas estruturas fúngicas, como hifas e esporos, os FMAs podem sintetizar uma glicoproteína, a glomalina, que também pode se ligar ao Cu, diminuindo a absorção e translocação pelas plantas. A glomalina, assim como outras proteínas que são expressas apenas na presença de FMAs, reduz o efeito tóxico do Cu pelo transporte do metal por vias não tóxicas da planta com armazenamento no vacúolo (REPETTO et al., 2003; MICHALAK, 2006). A maior atividade de enzimas antioxidantes em plantas micorrizadas também contribui para o desenvolvimento da planta em solo contaminado por metais pesados (MEIER et al., 2012).

2.6 ADUBOS ORGÂNICOS NA FITORREMEDIAÇÃO

A adição de adubos orgânicos ao solo contaminado consorciado com FMA pode ser uma alternativa para aumentar a eficiência da fitorremediação (JADIA; FULEKAR, 2008). O vermicomposto é um adubo orgânico que apresenta qualidade química, física e biológica, produzido a partir da bioconversão, por microrganismos e minhocas, de resíduos de baixo valor comercial, alta disponibilidade e que podem se tornar problemas ambientais em determinadas condições. Um exemplo é o esterco bovino, que “*in natura*” não é considerado um bom fertilizante para as plantas, mas que pode ser usado em um processo de compostagem ou vermicompostagem ou pode ter aplicação combinada (MOTAMEDI et al., 2021).

Ao final da vermicompostagem, o resíduo orgânico é transformado em um adubo orgânico estabilizado capaz de enriquecer nutricionalmente o solo (principalmente pela adição de N, P e potássio (K) via vermicomposto), aumentar o pH, estimular o crescimento microbiano e incrementar a matéria orgânica do solo (ECKHARDT et al., 2016). Esses fatores amenizam os efeitos tóxicos do Cu e favorecem o desenvolvimento das plantas em solo contaminado (NOVO et al., 2013). Isso se deve ao alto teor de matéria orgânica do vermicomposto, ou seja, muitos grupos funcionais de superfície capazes de complexar grandes quantidade de metais pesados (STEVENSON, 1994)

A adição do vermicomposto ao solo pode promover a diminuição ou o aumento da disponibilidade dos metais pesados as plantas. Em doses maiores, o vermicomposto pode reduzir as formas disponíveis de Cu no solo e, conseqüentemente, a toxidez do metal, estimulando um aumento da biomassa das plantas devido ao fornecimento de nutrientes e melhorias de outras propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (JONES et al., 2016; FERREIRA et al., 2018a). O tempo de maturação do vermicomposto pode interferir na fitorremediação, já que influencia na qualidade do material orgânico e, conseqüentemente, na disponibilidade do Cu e de outros nutrientes para as plantas. A perda de C na forma de CO₂ pela respiração das minhocas e microrganismos pode reduzir a relação C:N dos resíduos em aproximadamente 40 % após o processo de vermicompostagem (SOOBHANY et al., 2015). Nesse processo, nutrientes como N, P e K assumem formas inorgânicas ficando disponíveis para serem absorvidos pelas plantas. Além disso, há um aumento do pH do vermicomposto que atinge valores entre 7 a 9 e uma redução do tamanho das partículas pela decomposição, o que resulta em um aumento da área superficial específica elevando a capacidade do vermicomposto de reter água e nutrientes do solo (AGULLÓ et al., 2015).

De acordo com Brighenti et al. (2010), apesar de não haver grandes diferenciações na composição qualitativa dos grupamentos funcionais, o processo de humificação se dá pela reorganização estrutural e possível polimerização de grupamentos de menor massa molar. Isso significa que, à medida que o vermicomposto amadurece, ácidos orgânicos de baixo peso molecular são ressintetizados pela ação enzimática dos microrganismos e minhocas, sendo incorporados a fração húmica (ECKHARDT et al., 2016). Antunes et al. (2015) observaram uma redução do C orgânico total e dos ácidos fúlvicos de resíduos agroindustriais durante a vermicompostagem. Contudo, os ácidos húmicos aumentaram proporcionalmente, demonstrando uma estabilização dos compostos orgânicos durante o processo e, conseqüentemente, maior segurança para serem utilizados na agricultura.

Dessa maneira, devido ao acréscimo de ácidos húmicos de alto peso molecular ao longo do processo de vermicompostagem, a adição de um vermicomposto de alta maturação pode ter efeito fitoestabilizador do Cu no solo. Logo, pode contribuir para diminuir a translocação de Cu para a parte aérea da planta e, conseqüentemente, os efeitos fitotóxicos do metal. Por outro lado, a adição de um vermicomposto de baixa maturação pode promover a fitoextração do Cu na medida em que aumenta sua mobilidade pela formação de complexos orgânicos solúveis com o metal, aumentando a quantidade de Cu translocada e acumulada pela parte aérea da planta.

2.7 INTERAÇÃO ENTRE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E ADUBOS ORGÂNICOS NA FITORREMEDIAÇÃO

Embora pouco se conheça da interação entre a planta fitorremediadora, o vermicomposto e o FMA, estudos demonstram que o vermicomposto e o FMA consorciados são eficazes em amenizar os efeitos tóxicos do Cu. Juntos eles são capazes de promover maior quantidades de nutrientes, clorofila total (*Chlt*) no tecido e taxa fotossintética, resultando em maior massa seca das raízes e parte aérea (INOCENCIO, 2012; GARDEZI et al., 2014).

Lahbouki et al (2021) observaram que a aplicação de vermicomposto e FMA aumentou em 60 e 84 % os conteúdos de açúcar e proteína em *Opuntia ficus-indica*, melhorou o crescimento e as propriedades bioquímicas e estimulou a colonização micorrízica. Fernández-Gómez et al. (2012) não verificaram efeitos da inoculação com FMA em um solo enriquecido com vermicomposto na fitorremediação de metais pesados por *Trifolium repens*. Tal comportamento pode ser atribuído a menor colonização micorrízica afetada pela adição de nutrientes, em particular as elevadas quantidades de P presentes nos compostos orgânicos

(MARQUES et al., 2009). Além disso, Trentin et al (2019) verificaram que a adição de vermicomposto em uma dose alta (30 g kg^{-1} de C equivalendo a $86,7 \text{ g kg}^{-1}$ de vermicomposto) não foi eficiente para reduzir os efeitos tóxicos do Cu nas plantas, pelo contrário, os metais presentes no próprio vermicomposto foram mineralizados e provocaram toxidez nas plantas.

Dessa maneira, ainda existem lacunas no conhecimento de como ocorre a interação entre FMA e adubos orgânicos na fitorremediação. Apesar da interação da planta com o FMA promover proteção contra o estresse causado pelos metais pesados e maior crescimento da planta, devido a maior absorção de água e nutrientes, esses efeitos variam de acordo com o tipo de solo, nível de contaminação, espécie fúngica, planta fitorremediadora e demais condições ambientais (TIWARI et al., 2020; SIQUEIRA et al., 2010). Com a adição do vermicomposto ao solo contaminado, muitas dessas condições são alteradas de acordo com a qualidade do adubo e a dose utilizada que interferem na disponibilidade de nutrientes e contaminantes no solo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 SOLO

O solo foi coletado na camada de 0-20 cm de uma área de pastagem natural sem histórico de cultivo, adjacente a um vinhedo da Campanha Gaúcha (30° 48' 27'' S e 55° 22' 42'' W). O solo foi autoclavado a 120 °C por 2 horas para eliminar os esporos de FMA nativos. O solo foi contaminado com 100 mg kg⁻¹ de Cu, utilizando-se cloreto de Cu (66.33 %) e sulfato de Cu (33.34 %) com o objetivo de obter teores acima dos valores de prevenção estabelecidos pela legislação brasileira (CONAMA, 2009). Uma solução do mesmo solo não autoclavado foi filtrada em 500 mesh (0,025 mm) para retenção dos esporos micorrízicos nativos e reinoculada no solo autoclavado para restabelecimento da microbiota (HAYMANN; MOSSE, 1971). O solo foi incubado por 40 dias e após foram determinados os teores de argila (densímetro), matéria orgânica (Walkley-Black), pH (água 1:1), CTC (pH 7), P (Mehlich-1), K (Mehlich-1), Ca (Mehlich-1), Mg (Mehlich-1) Zn (Mehlich-1) e Cu (Mehlich-1). A capacidade de campo do solo (CC) é de 0,22 m³m⁻³, determinada em mesa de tensão, com amostras de solo saturadas por 48 horas e submetidas a um potencial de 10 kPa por 4 dias (KLUTE, 1986).

3.2 VERMICOMPOSTO

O vermicomposto foi produzido à base de esterco bovino de gado de corte em confinamento sem tratamento antiparasitário. Depois de 15 dias de secagem à sombra em sacos de prolipropileno, o esterco foi inoculado com minhocas adultas *Eisenia andrei* Bouché (1972), a uma densidade de 5.000 minhocas por m² em vermireatores com capacidade de 5 litros. A vermicompostagem foi interrompida aos 45 (baixa maturação) e aos 120 dias (alta maturação). O vermicomposto foi seco a 105 °C até atingir massa constante, peneirado e determinados o pH (água 1:1), a condutividade elétrica (água 1:10), os teores totais de N e C em analisador elementar (Flash 1112, Thermo Finnigan, Itália) e a relação C/N conforme Biruntha et al. (2019). Após digestão nítrica-perclórica foram determinados os teores de P (espectrofotometria), K (fotometria de chama), Ca, Mg, Cu, Zn e Fe (espectrometria de absorção atômica) (BHAT et al., 2017).

3.3 FUNGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR

O *Rhizoglyphus clarum* foi adquirido junto a coleção de culturas da Embrapa Agrobiologia. Este fungo apresentou desempenho promissor em estudos prévios de recuperação de áreas degradadas contaminadas com metais (SILVA et al., 2006; SANTANA et al., 2015). Os espécimes foram isolados de culturas de iscas e reproduzidos conforme Melville et al. (1994).

3.4 CULTIVO DAS PLANTAS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A planta de cobertura de verão feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) foi escolhida devido a resultados promissores na fitorremediação de solos arenosos contaminados com Cu (VENDRUSCOLO, 2013; SANTANA et al., 2015; SANTANA et al., 2018; SANTANA et al., 2019). O cultivo ocorreu em casa de vegetação em vasos de 4 L com fundo vedado contendo 3,5 kg de solo. Cinco sementes foram inoculadas com a bactéria fixadora de N recomendada (*Bradyrhizobium elkanii*) e após a germinação foi realizado o desbaste, deixando-se 2 plantas por vaso. O fungo micorrízico foi inoculado 3 cm abaixo de cada semente com 100 esporos, no momento da semeadura. Os vasos foram pesados diariamente e água destilada foi adicionada sempre que necessário para manter 70 % da capacidade de campo.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em um fatorial 4 x 2, com 4 repetições. Os tratamentos foram: adubação mineral (MIN), esterco (EST), vermicomposto de baixa maturação (VBM, 45 dias) e vermicomposto de alta maturação (VAM, 120 dias), com e sem a inoculação do fungo micorrízico. A quantidade de adubo orgânico adicionada foi a equivalente a 40 mg de P kg⁻¹, o que resultou em 5,74; 6,85 e 9,1 g de EST, VBM e VAM por kg de solo, respectivamente. Essa dose se baseia em estudos preliminares onde o FMA teve melhor desempenho na fitorremediação (SANTANA et al. 2015; SANTANA et al., 2018; BRUNETTO et al., 2019). No tratamento MIN a única adubação utilizada foi 40 mg de P kg⁻¹ na forma de solução de fosfato de potássio (KH₂PO₄).

3.5 CRESCIMENTO, MICORRIZAÇÃO E ELEMENTOS QUÍMICOS NA PLANTA

No florescimento, aos 56 dias após a germinação a parte aérea das plantas foi cortada rente à superfície do solo. As raízes foram separadas do solo e lavadas cuidadosamente em água corrente, água destilada e reservadas. Os nódulos foram retirados das raízes com uma pinça.

Em seguida, a parte aérea, as raízes e os nódulos foram secos em estufa a 65° C até peso constante. A taxa de micorrização foi avaliada pelo rastreamento de hifas e vesículas em 20 segmentos de raiz de 1 cm de comprimento, clarificadas em KOH, coradas com azul de tripano 0.05 % e montadas em lâminas de vidro para a microscopia (GIOVANNETTI; MOSSE, 1980).

Os teores de Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, P e K da parte aérea foram determinados após digestão nítrico-perclórica (TEIXEIRA et al., 2017). O Cu, Zn, Mn, Ca e Mg foram determinados em espectrofotômetro de absorção atômica (Analyst 2000, Perkin-Elmer, EUA), o P foi determinado em espectrofotômetro de absorção atômica (932 AA, GBC, Austrália) de acordo com Murphy e Riley (1962) e o K foi determinado em fotômetro de chama (DM-62, DIGIMED, Brasil). O teor de N da parte aérea foi determinado após digestão sulfúrica pelo método Kjeldahl-1 (BREMNER; MULYANEY, 1982).

3.6 ELEMENTOS QUÍMICOS NA SOLUÇÃO E NO SOLO

Os teores de Cu, Zn, Mn, Ca, Mg, P e K do solo foram extraídos por Mehlich-1 (TEIXEIRA et al., 2017). Os teores de Cu, Zn, Mn, Ca e Mg foram determinados em espectrofotômetro de absorção atômica (Analyst 2000, Perkin-Elmer, EUA). O P e o K foram determinados como acima descrito. Foram calculados o fator de bioacumulação (FB), através da divisão entre os teores de Cu na parte aérea e no solo e o índice de transferência (IT), através da divisão entre os teores de Cu na parte aérea e nas raízes. A solução do solo foi obtida por pasta de saturação. As amostras saturadas permaneceram em repouso por 16 h até atingir o equilíbrio solo-solução. Após este período, o solo foi acondicionado em funis de Büchner, de 20 cm de diâmetro, com filtro de papel no fundo. A solução do solo foi extraída com o auxílio de um frasco de sucção (Kitassato), com o funil acoplado e uma bomba de sucção. Logo após este procedimento, foi realizada a leitura do pH e imediatamente as amostras foram filtradas (0,22 µm) para determinação dos teores dos elementos químicos Cu, Zn e Mn em espectrômetro de emissão atômica (Analyst 2000, Perkin-Elmer, EUA) e o P foi determinado como acima descrito.

3.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO TECIDO VEGETAL

Para determinação das enzimas de estresse oxidativo e dos pigmentos fotossintéticos, uma folha de cada planta foi coletada no momento da colheita, imediatamente congelada em

caixas térmicas com N líquido e posteriormente armazenada a - 80 °C. Também foi determinado o índice SPAD (SPAD-502, CHLOROPHYLL METER, Japão).

Os ensaios enzimáticos foram conduzidos com amostras frescas de folhas (0,5 g) maceradas em N líquido e homogeneizadas com a adição de 5 mL de tampão fosfato de K 100 mmol L⁻¹ (pH 7,5), contendo 1 mmol L⁻¹ de EDTA, 0,1 % (v/v) Triton X-100 e 2% (p/v) PVP para obtenção do extrato usado na determinação das enzimas do estresse oxidativo, de acordo com Azevedo et al. (1998). A mistura homogeneizada foi centrifugada (14.000 x g por 30 minutos a 4 °C) e o sobrenadante foi utilizado para determinar as enzimas antioxidantes.

A atividade da enzima superóxido dismutase [SOD, unidade de enzima (U) mg⁻¹ proteína] foi estimada de acordo com Giannopolitis e Ries (1977). Uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima requerida para causar 50% de inibição da oxidação da epinefrina nas condições experimentais (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971). A atividade da peroxidase (POD, U mg⁻¹ proteína) foi determinada de acordo com Zeraik et al. (2008) usando guaiacol como substrato e um coeficiente de extração molar de 26.6 mmol L⁻¹ cm⁻¹. Uma unidade de POD é definida como a quantidade de enzima que catalisa a conversão de guaiacol e peróxido de hidrogênio para formar 1 μmol de tetraguaicol min⁻¹ mL⁻¹ de extrato a 470 nm.

Para determinar os conteúdos de carotenóides e clorofila *a* (*chl a*), clorofila *b* (*chl b*) e clorofila total (*chl t*) as amostras de tecido foliar foram maceradas em acetona a 80 % e a quantificação destes pigmentos foi obtida por espectrofotometria (SF325NM, Bel, Engineering, Italy) em 645, 663 e 470 nm de acordo com a metodologia de Arnon (1949).

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram submetidos a um teste de normalidade (Shapiro-Wilk com $p < 0.05$) e submetidos a análise fatorial de variância (ANOVA). Valores médios estatisticamente significativos foram comparados pelo teste de Tukey com $p < 0.05$. As variáveis analisadas foram submetidas a uma análise de correlação de Pearson e agrupadas em uma análise de componentes principais (PCA), utilizando o software R (R CORE TEAM, 2020). As variáveis Fe Mehlich-1, Zn solução, Cu Raiz (mg pot⁻¹), FB, IT, Zn, Mn e Mg PA foram submetidas a transformação log(x) para seguir pressupostos de normalidade.

4 RESULTADOS

4.1 ATRIBUTOS QUÍMICOS DO VERMICOMPOSTO

O processo de vermicompostagem modificou as características químicas do esterco bovino (Tabela 1). Os teores de C orgânico total foram reduzidos pela vermicompostagem, sendo maior esta redução quanto maior o tempo de atuação das minhocas. Já o teor de N total aumentou no vermicomposto de baixa maturação (VBM) em relação ao esterco (EST), mas foi menor no vermicomposto de alta maturação (VAM). A relação C/N não diferiu estatisticamente entre os vermicompostos, mas apresentou redução média de 12 % destes em relação ao esterco bovino (EST). Os teores de P, Ca, Mg, Cu e Zn foram maiores no vermicomposto com maior período de maturação (VAM). O pH ($p > 0,05$) e o teor de Fe ($p > 0,05$) não apresentaram diferença significativa entre os diferentes adubos.

Tabela 1 – Características químicas do esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e de alta maturação (VAM).

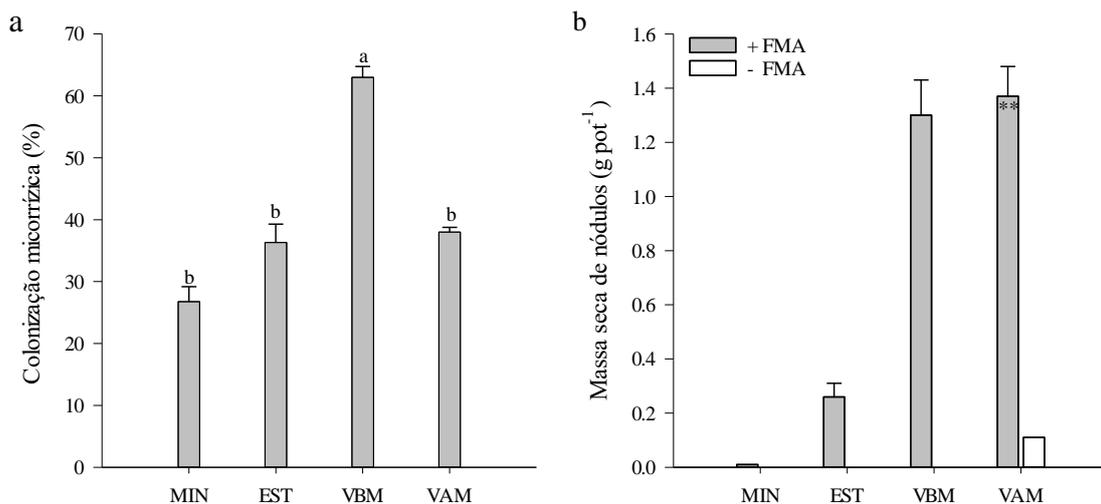
Atributos	EST	VBM	VAM
pH	8,20 ± 0,20 ns	8,20 ± 0,00	8,30 ± 0,00
C total (g kg ⁻¹)	394,20 ± 5,70 a	361,20 ± 2,50 bc	341,30 ± 5,60 c
N total (g kg ⁻¹)	26,40 ± 0,50 bc	28,90 ± 0,20 a	24,80 ± 0,90 c
Relação C/N	15,00 ± 0,40 a	12,50 ± 0,10 cd	13,80 ± 0,30 bc
P (g kg ⁻¹)	5,80 ± 0,30 c	6,70 ± 0,40 bc	9,10 ± 0,30 a
K (g kg ⁻¹)	19,20 ± 0,60 ab	17,80 ± 1,80 b	22,60 ± 0,70 a
Ca (mg kg ⁻¹)	2,10 ± 0,10 b	2,90 ± 0,20 ab	3,40 ± 0,20 a
Mg (mg kg ⁻¹)	9,20 ± 0,20 c	10,90 ± 0,90 bc	14,20 ± 0,40 a
Cu (mg kg ⁻¹)	17,40 ± 0,60 b	18,60 ± 1,60 b	23,90 ± 0,90 a
Zn (mg kg ⁻¹)	0,53 ± 0,10 b	0,63 ± 0,00 b	0,80 ± 0,10 a
Fe (mg kg ⁻¹)	1,70 ± 0,30 ns	1,50 ± 0,10	1,70 ± 0,10

Médias seguidas da mesma letra minúscula (efeito do tipo de adubo) não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ns, não significativo (teste F; $p < 0,05$). Média de 6 repetições.

4.2 COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA E MASSA SECA DE NÓDULOS

Nas plantas inoculadas a média de colonização foi de 41 %. O tipo de adubação teve efeito significativo ($p = 0,0019$) sobre a colonização por FMA (Figura 1a), sendo maior no VBM (63%). A massa seca dos nódulos foi em média 2,5 vezes maior nos tratamentos com vermicomposto (VBM e VAM) em relação ao EST. O tratamento mineral e a ausência do fungo micorrízico inibiram a nodulação (Figura 1b), com isto a interação entre o vermicomposto e a inoculação com FMA favoreceu a produção de nódulos ($p = 0,0081$). Não foram observadas hifas e vesículas nas plantas não inoculadas.

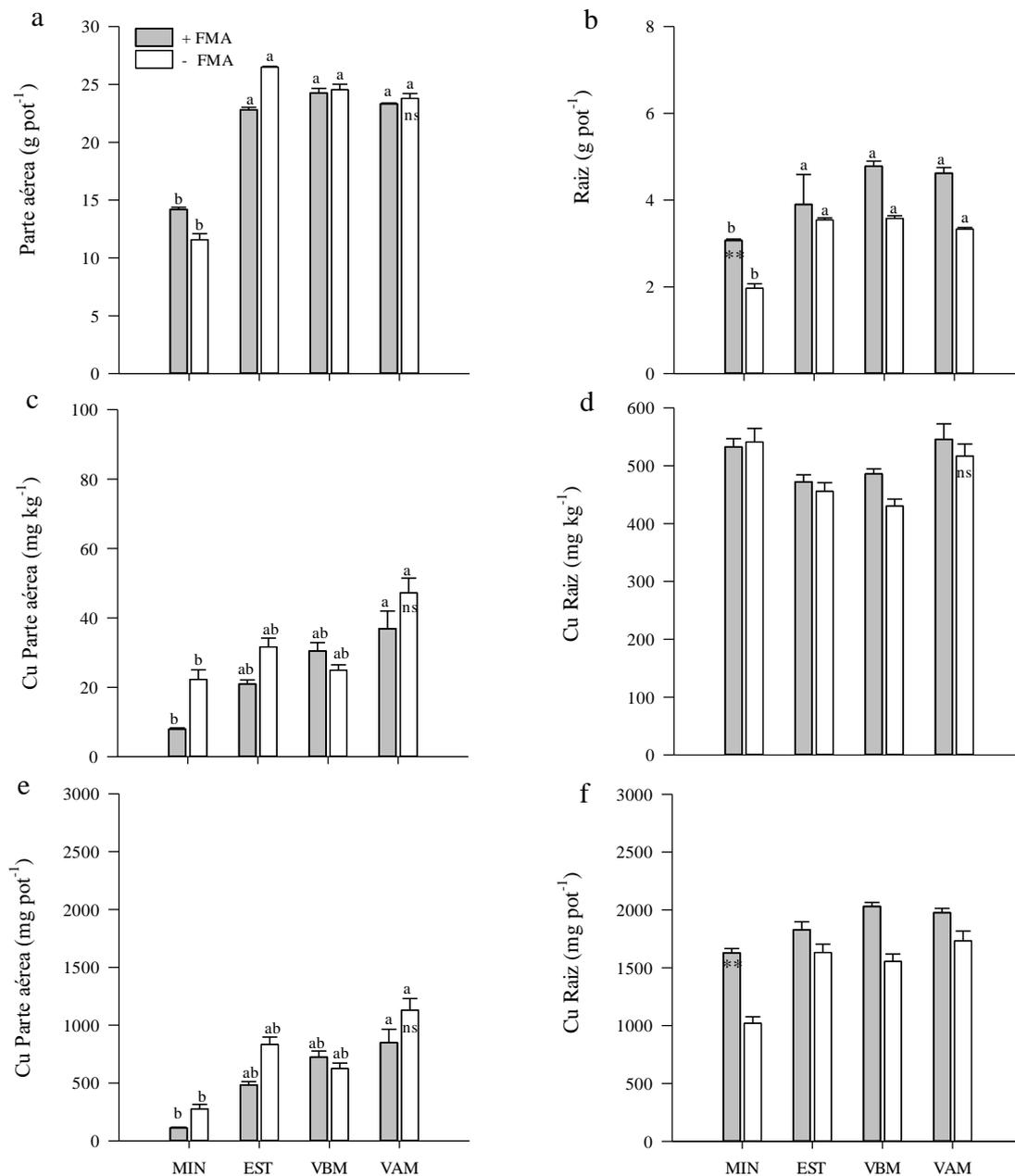
Figura 1 – Colonização micorrízica (a) e produção de massa seca de nódulos (b) em *Canavalia ensiformis* com e sem a inoculação pelo fungo micorrízico arbuscular (FMA). As plantas cresceram por 56 dias em solo arenoso contaminado com $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cu}$ e adicionado de adubação mineral (MIN) esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e alta maturação (VAM). As letras indicam diferenças entre o tipo de adubo em cada tratamento de inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey; ns: não significativo; ** efeito significativo da inoculação de FMA independentemente do tipo de adubo (F teste; $p < 0,05$).



4.3 CRESCIMENTO E TEOR DE NUTRIENTES E COBRE DA PLANTA

Houve um aumento de 49 % da massa seca de parte aérea e 36 % das raízes de *C. ensiformis* nos tratamentos com adução orgânica (EST, VBM e VAM) em relação ao MIN ($p < 0,0001$), não diferindo entre os tratamentos com adubação orgânica (Figura 2a, b). A inoculação com FMA resultou em um significativo aumento ($p = 0,0017$) da massa seca das raízes (cerca de 1 g pot^{-1}), independentemente do tipo de adubo.

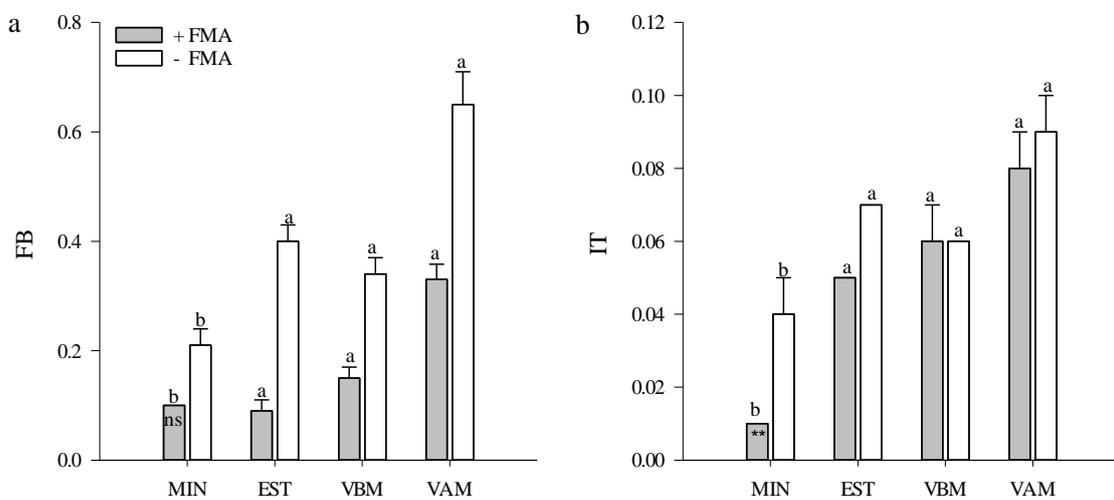
Figura 2 – Massa seca (a, b), teor de Cu nos tecidos (c, d) e a teor acumulado de Cu por vaso (e, f) em *Canavalia ensiformis* com e sem a inoculação pelo fungo micorrízico arbuscular (FMA). As plantas cresceram por 56 dias em solo arenoso contaminado com 100 mg kg^{-1} Cu e adicionado de adubação mineral (MIN) esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e alta maturação (VAM). As letras indicam diferenças entre tipo de adubo em cada tratamento de inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey; ns: não significativo; ** efeito significativo da inoculação de FMA independentemente do adubo (F teste; $p < 0,05$).



O vermicomposto de alta maturação (VAM) aumentou em 47 % os teores de Cu em parte aérea ($p = 0,0355$) e não apresentou influência sobre os níveis de Cu na raiz ($p = 0,3795$) (Figura 2c, d). A micorriza não afetou os teores de Cu em parte aérea ($p = 0,3694$) e raiz ($p = 0,5782$). A concentração de Cu acumulada em parte aérea também foi maior no VAM ($p = 0,0063$). Este aumento foi de 84 % em relação a adubação mineral e de 33 % em relação à média do EST e VBM. Já a presença do FMA não afetou a concentração de Cu acumulada em parte aérea ($p = 0,3063$) (Figura 2e). O FMA promoveu maior acúmulo de Cu nas raízes em todas as condições de adubação (aumento médio de 29 % em relação as plantas sem FMA) ($p = 0,0106$) (Figura 2f).

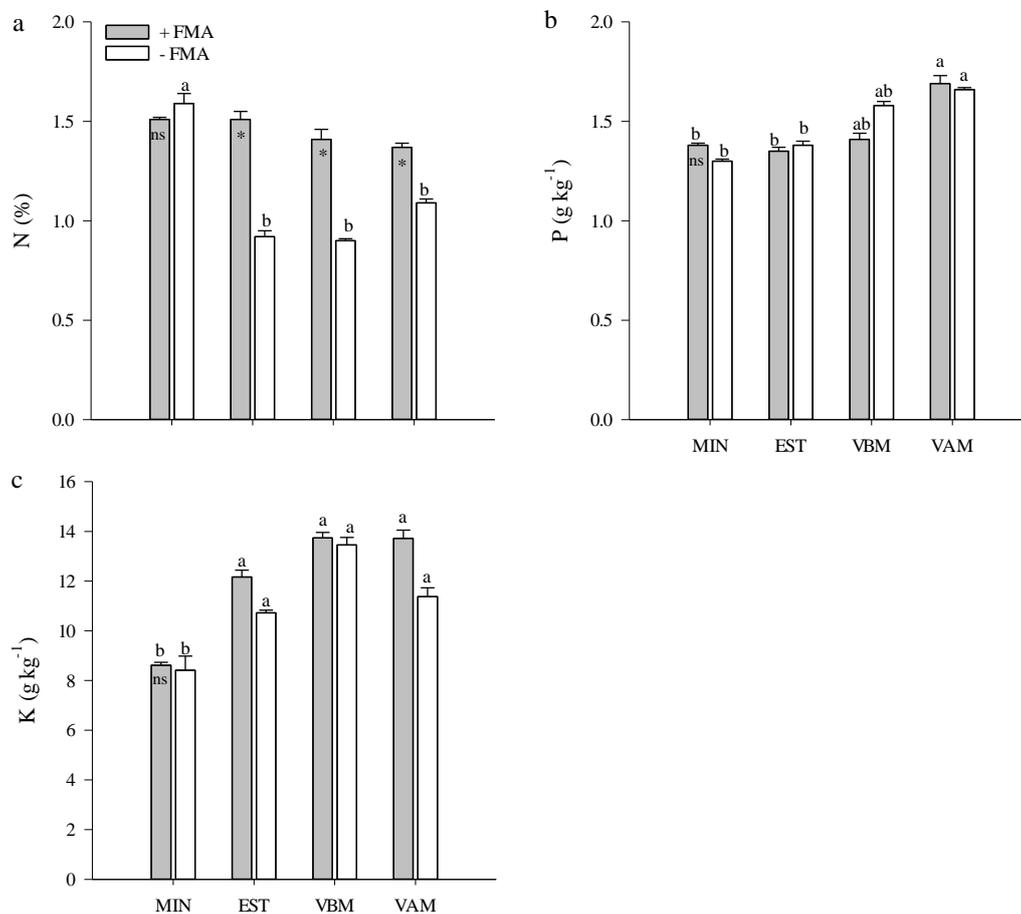
Os tratamentos com adubação orgânica (EST, VBM e VAM) tiveram maior FB ($p = 0,0109$) e IT ($p = 0,007$) em relação ao tratamento com adubação mineral (MIN), não havendo diferença entre os tratamentos com adubação orgânica (Figura 3). A inoculação com FMA não teve efeito sobre o FB ($p = 0,0813$) (Figura 3a). O IT reduziu 36 % em todas as condições de adubação na presença do FMA em relação aos tratamentos sem micorriza (Figura 3b).

Figura 3 – Fator de bioacumulação (FB) (a) e índice de transferência (IT) (b) em *Canavalia ensiformis* com e sem a inoculação pelo fungo micorrízico arbuscular (FMA). As plantas cresceram por 56 dias em solo arenoso contaminado com $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cu}$ e adicionado de adubação mineral (MIN) esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e alta maturação (VAM). As letras indicam diferenças entre os tipos de adubos em cada tratamento de inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey; ns: não significativo; ** efeito significativo da inoculação de FMA independentemente do adubo (F teste; $p < 0,05$).



A inoculação com FMA aumentou em 22 % conteúdos de N nas folhas de *C. ensiformis* ($p = 0,0214$) nos tratamentos com adubação orgânica (Figura 4a). O teor de P na parte aérea foi maior nas plantas adicionadas de VAM ($p = 0,0019$), cerca de 6 % acima da média geral dos demais tratamentos (Figura 4b). O teor de K foi 32 % maior nos tratamentos com adubação orgânica em relação ao adubo mineral ($p = 0,0004$), não diferindo entre os tratamentos com adubação orgânica (Figura 4c). Os teores de Ca (média = $3,80 \text{ g kg}^{-1}$; $p = 0,9989$), Mg (média = $1,20 \text{ g kg}^{-1}$; $p = 0,9818$), Fe (média = $62,60 \text{ mg kg}^{-1}$; $p = 0,9223$), Mn (média = $1,12 \text{ g kg}^{-1}$; $p = 0,1789$) e Zn (média = $20,06 \text{ mg kg}^{-1}$; $p = 0,7210$) não diferiram entre os tratamentos.

Figura 4 – Teores de nitrogênio (N) (a), fósforo (P) (b) e potássio (K) (c) em parte aérea de *Canavalia ensiformis*. As plantas cresceram por 56 dias em solo arenoso contaminado com 100 mg kg⁻¹ Cu e adicionado de adubação mineral (MIN) esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e alta maturação (VAM). As letras indicam diferenças entre os tipos de adubos em cada tratamento de inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey; ns: não significativo; * efeito significativo da inoculação de FMA dentro de cada tipo de adubo; ** efeito significativo da inoculação de FMA independentemente do adubo (F teste; p < 0,05).

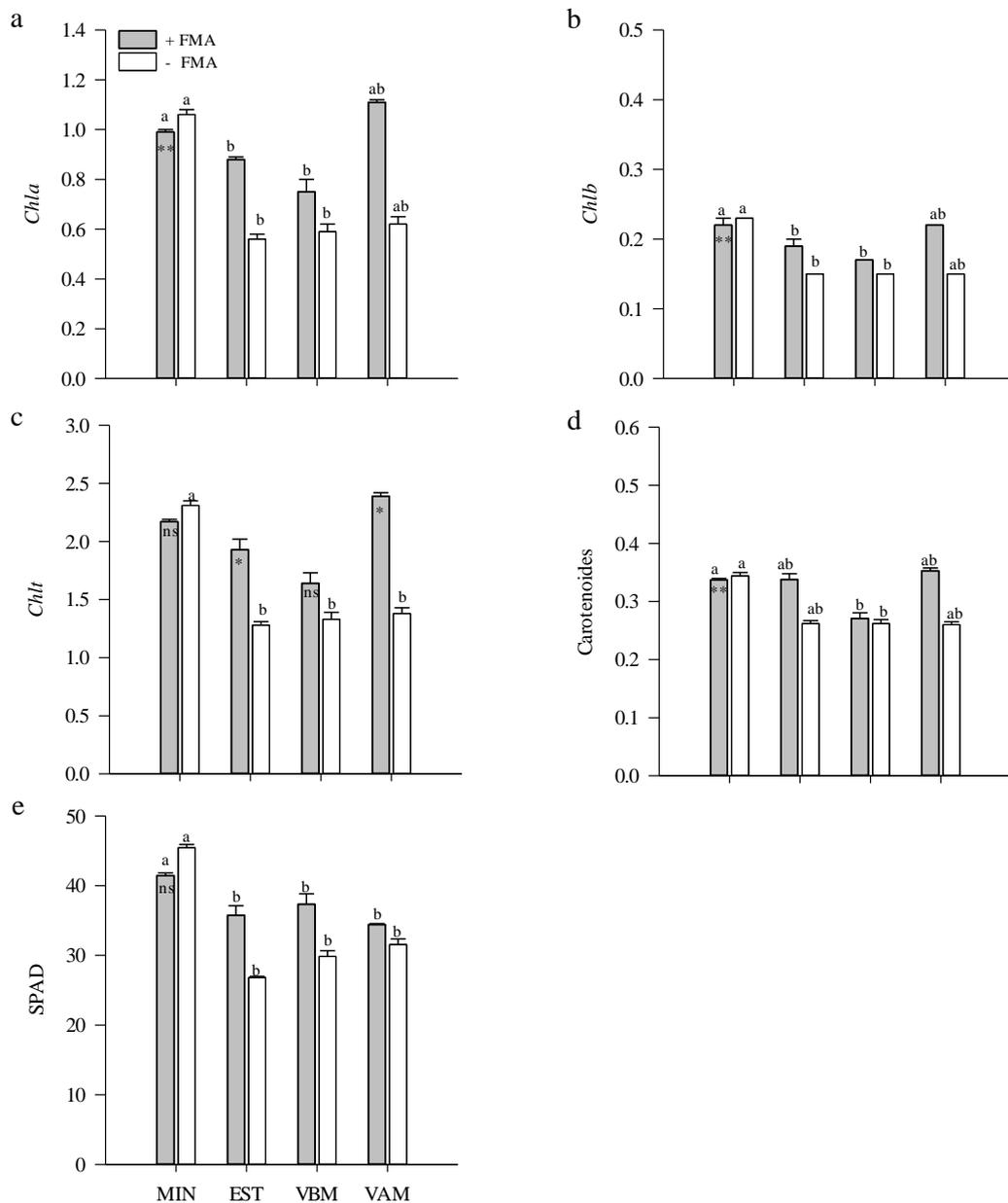


4.4 PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E ATIVIDADE DE ENZIMAS DE ESTRESSE OXIDATIVO

O teor de *chl a* foi maior nos tratamentos VAM com micorriza e MIN, cerca de 27 % acima da média geral dos demais tratamentos (Figura 5a). Além disso, a inoculação com o FMA promoveu um aumento de 36 % no teor de *chl a* nos tratamentos com adubação orgânica (EST,

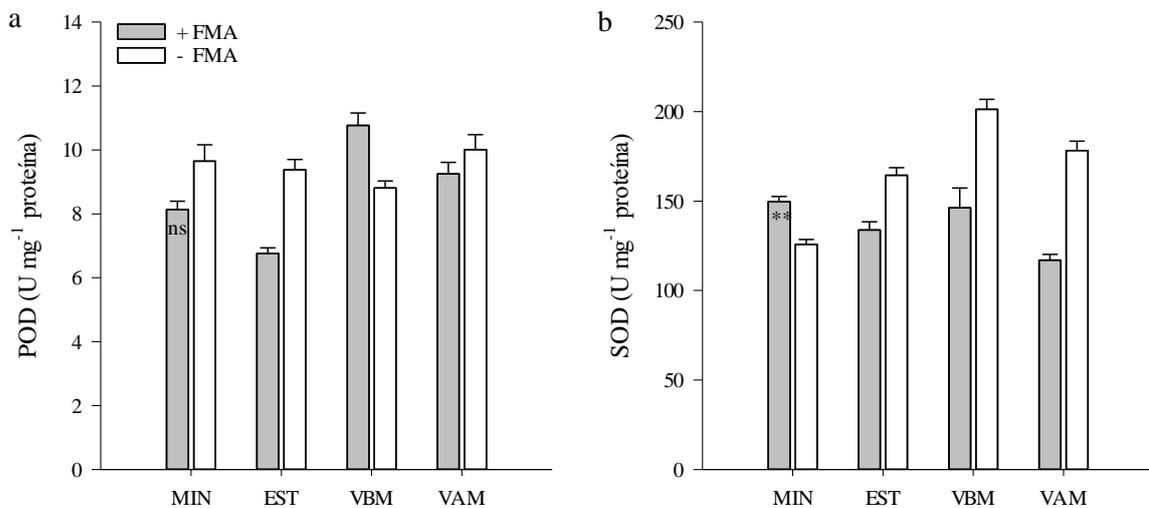
VBM e VAM). A concentração de *chl*b também foi maior nos tratamentos VAM com micorriza e MIN, cerca de 21 % acima da média geral dos demais tratamentos (Figura 5b). A inoculação com o FMA promoveu um aumento de 22 % no teor de *chl*b nos tratamentos com adubação orgânica. Nos tratamentos com adubação mineral e em VAM com FMA houve maior concentração de *chl*t e carotenoides, cerca de 35 e 20 % a mais que os demais tratamentos, respectivamente (Figura 5c, d). O índice SPAD foi significativamente afetado pela adubação ($p = 0,0009$), apresentando valores mais elevados na adubação mineral (MIN) em relação aos tratamentos com adubação orgânica (EST, VBM e VAM) (Figura 5e).

Figura 5 – Concentrações (U mg⁻¹ proteína) de Clorofila *a* (*Chla*) (a), Clorofila *b* (*Chlb*) (b), Clorofila total (*Chlt*) (c), carotenoides (d) e índice SPAD (e) nas folhas de *Canavalia ensiformis* com e sem inoculação de fungo micorrízico arbuscular (FMA). As plantas cresceram por 56 dias em solo arenoso contaminado com 100 mg kg⁻¹ e adicionado de adubação mineral (MIN) esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e alta maturação (VAM). As letras indicam diferenças entre tipo de adubo em cada tratamento de inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey; ns: não significativo; * efeito significativo da inoculação de FMA dentro de cada tipo de adubo; ** efeito significativo da inoculação de FMA independentemente do adubo (F teste; p < 0,05).



A adubação não afetou a atividade das enzimas do estresse oxidativo POD ($p = 0,4479$) e SOD ($p = 0,2577$) (Figura 6a). A atividade da SOD diminuiu nas plantas micorrizadas ($p = 0,0243$) nos tratamentos com adubação orgânica (Figura 6b).

Figura 6 – Atividade das enzimas peroxidase (POD) (a) e superóxido dismutase (SOD) (b) em *Canavalia ensiformis* com e sem inoculação pelo fungo micorrízico arbuscular (FMA). As plantas cresceram por 56 dias em solo arenoso ao qual $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cu}$ e com vermicompostos de diferentes tempos de maturação adicionados. As plantas cresceram por 56 dias em solo arenoso contaminado com 100 mg kg^{-1} e adicionado de adubação mineral (MIN) esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e alta maturação (VAM). As letras indicam diferenças entre tipo de adubo em cada tratamento de inoculação. Médias seguidas pela mesma letra não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ns, não significativo; ** efeito significativo da inoculação de FMA independentemente do adubo (F teste; $p < 0,05$).



4.5 ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO

A adição de 100 mg kg^{-1} de Cu após cultivo de *C. ensiformis* resultou em uma concentração média geral de $75,81 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cu (Mehlich) no solo arenoso e $2,23 \text{ mg L}^{-1}$ Cu (Solução) e não foram modificados pelos diferentes tratamentos. O uso dos adubos orgânicos (EST, VBM e VAM) aumentaram os teores de Zn (Mehlich) (incremento de 19 %), P (solução) (incremento de 57 %), P (Mehlich) (incremento de 70 %) e K (Mehlich) (incremento de 32 %) no solo arenoso em relação ao tratamento com adubação mineral (MIN) (Tabela 2).

Tabela 2 – Características químicas do solo antes e após cultivo de *Canavalia ensiformis* com e sem fungo micorrízico arbuscular em solo arenoso contaminado com 100 mg kg⁻¹ Cu e adicionado de adubo mineral (MIN), esterco bovino (EST), vermicomposto de baixa (VBM) e de alta maturação (VAM).

Atributos	Antes do cultivo	Inoculação	MIN	EST	VBM	VAM
P solução (mg L ⁻¹)	-	+FMA	0,28 ± 0,01 nsb ⁽¹⁾	0,62 ± 0,19 ab	0,90 ± 0,24 a	0,67 ± 0,08 a
		-FMA	0,27 ± 0,01 nsb	0,51 ± 0,19 ab	0,60 ± 0,24 a	0,56 ± 0,24 a
P Mehlich-1 (mg kg ⁻¹)	9,50	+FMA	9,87 ± 2,36 Ac	25,88 ± 1,13 Ab	41,61 ± 7,73Aa	42,09 ± 1,82 Aa
		-FMA	8,95 ± 3,78 Bc	23,30 ± 6,41 Bb	33,08 ± 5,06 Ba	26,53 ± 4,84 Bab
K Mehlich-1 (mg kg ⁻¹)	80,00	+FMA	26,05 ± 5,48 nsb	43,33 ± 8,77 a	37,12 ± 4,14 ab	41,78 ± 9,63 a
		-FMA	29,25 ± 1,51 nsb	34,79 ± 3,44 a	38,88 ± 3,22 ab	49,59 ± 9,36 a
Ca Mehlich-1 (mg kg ⁻¹)	420,84	+FMA	155,67 ± 24,25 Aa	144,74 ± 47,28 Aa	146,45 ± 80,38 Aa	119,08 ± 32,28 Ba
		-FMA	198,45 ± 6,21 Aa	96,09 ± 32,07 Ab	60,81 ± 14,18 Bb	182,03 ± 6,32 Aa
Mg Mehlich-1 (mg kg ⁻¹)	121,56	+FMA	44,19 ± 10,46 Ba	41,45 ± 15,41 Aa	55,58 ± 25,89 Aa	46,31 ± 12,01 Ba
		-FMA	63,43 ± 12,60 Aa	30,25 ± 12,07 Ab	27,02 ± 2,43 Bb	69,86 ± 5,35 Aa
Cu Mehlich-1 (mg kg ⁻¹)	93,20	+FMA	77,19 ± 6,41 ns	67,99 ± 3,08	86,67 ± 3,63	64,89 ± 11,78
		-FMA	76,70 ± 4,93 ns	79,02 ± 7,76	79,28 ± 14,15	74,66 ± 9,42
Cu solução (mg L ⁻¹)	-	+FMA	2,26 ± 1,06 ns	0,50 ± 0,44	1,43 ± 0,59	1,53 ± 0,05
		-FMA	2,73 ± 1,59 ns	4,39 ± 2,92	3,04 ± 1,35	1,90 ± 0,27
Mn solução (mg L ⁻¹)	-	+FMA	98,87 ± 17,66 Aa	18,33 ± 4,61 Bb	16,95 ± 4,08 Ab	83,29 ± 46,36Aa
		-FMA	49,97 ± 22,98 Ba	42,71 ± 13,06 Aab	17,75 ± 8,52 Ab	48,75 ± 19,3 Bab
Zn Mehlich-1 (mg kg ⁻¹)	1,83	+FMA	2,07 ± 0,05 nsb	2,48 ± 0,19 a	2,43 ± 0,13 a	2,59 ± 0,28 a
		-FMA	2,03 ± 0,06 nsb	2,38 ± 0,21 a	2,73 ± 0,13 a	2,58 ± 0,27a

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra maiúscula (efeito da inoculação de FMA para cada condição de adubo) e letra minúscula (efeito dos tipos de adubos para tratamentos com e sem inoculação de FMA) não foram significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ns, não significativo (teste F; $p < 0,05$).

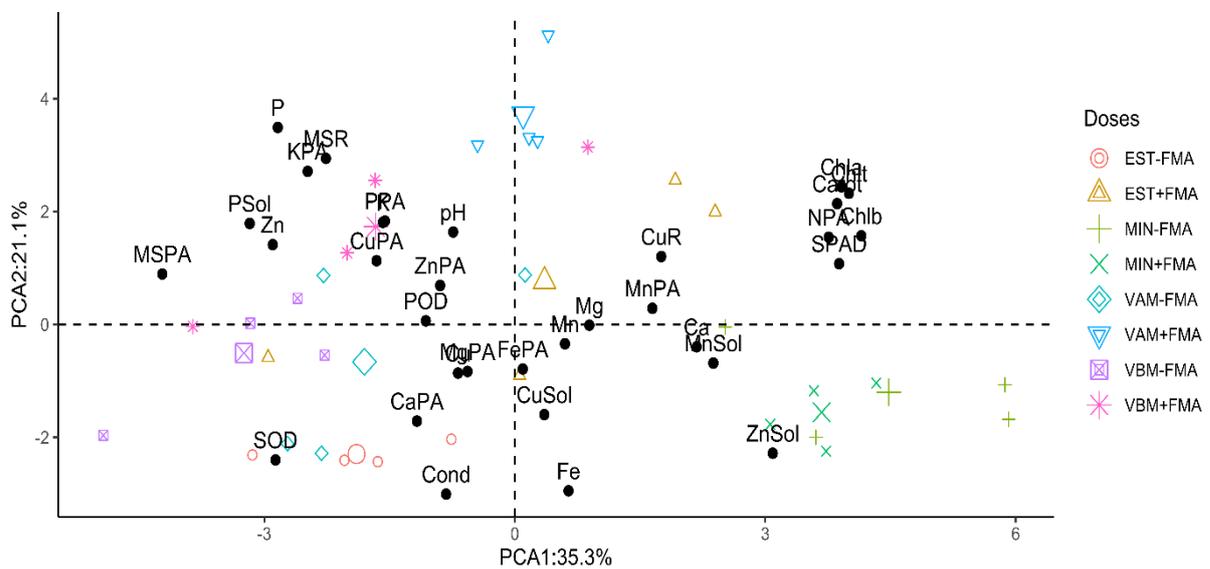
Os teores de P disponível e em solução aumentaram cerca de 26,11 mg kg⁻¹ e 0,37 mg L⁻¹ no solo adicionado de VBM e VAM respectivamente em relação ao tratamento que recebeu adubação mineral (MIN). A presença dos diferentes adubos não modificou o pH (média = 6,43; $p = 0,4628$), condutividade (média = 44,29; $p = 0,4689$), Zn (solução) (média = 0,70 mg L⁻¹; $p = 0,0618$), Fe (Mehlich) (média = 36,88 mg kg⁻¹; $p = 0,3893$) e Mn (Mehlich) (média = 63,30 mg kg⁻¹; $p = 0,7962$). A inoculação com FMA teve efeito significativo ($p = 0,0014$) no aumento de P disponível (incremento de 23 %), principalmente na presença de VAM.

Os níveis K, Ca e Mg diminuíram significativamente em relação ao solo antes do cultivo. Nesse mesmo solo também foram determinados os teores de argila (9 %) e MO (1 %) e o pH (5,6). A concentração média geral de Cu no solo arenoso diminuiu em torno de 19 % em relação a concentração antes do cultivo. Por outro lado, os teores de Zn e P aumentaram especialmente nos tratamentos com adubação orgânica.

4.6 CORRELAÇÃO E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

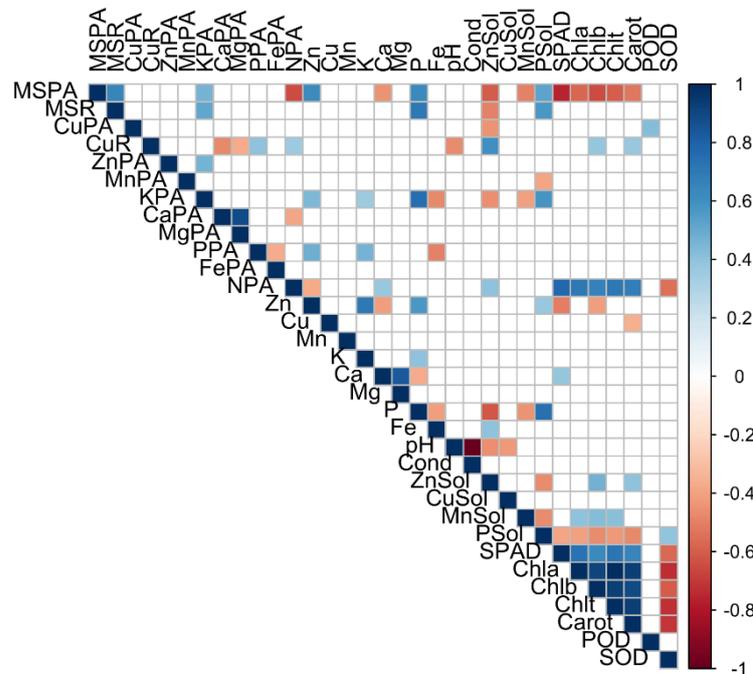
A PCA, que abordou os diferentes tipos de adubo e a inoculação com o *R. clarum*, explicou 56,4 % da variabilidade dos dados (Figura 7). A maior parte da variação do conjunto de dados originais (35,3 %) foi explicada pelo primeiro componente (PC1), que foi principalmente associado com massa seca de parte aérea (MSPA); Mn na solução (MnSol); Mn no tecido (MnPA); Ca e Mg disponíveis e atividade de POD. O segundo componente explicou 21,1% e apresentou relação com o tratamento VAM com FMA e esteve pouco relacionado com as variáveis analisadas. O tratamento VBM com micorriza (VBM+FMA) foi relacionado as variáveis MSPA e massa seca de raiz (MSR); P, K, Cu, Zn no tecido; P, K e Zn disponíveis; pH e P em solução e atividade de POD.

Figura 7 – Análise de componentes principais (PCA) considerando as seguintes variáveis: concentrações de cobre (Cu) (CuPA), zinco (Zn), manganês (Mn), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), nitrogênio (N), fósforo (P) e ferro (Fe) na parte aérea; Cu na raiz (CuR); Cu, Zn, Mn, K, Ca, Mg, P e Fe disponíveis; Cu na solução (CuSol), Zn (ZnSol); Mn (MnSol), P (PSol), condutividade e pH; massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR); Atividade de superóxido dismutase (SOD) e peroxidase (POD); concentrações de clorofila total (Chlt) clorofila a (Chla), clorofila b (Chlb), carotenoides e índice SPAD em *Canavalia ensiformis*.



O maior crescimento da planta apresentou relação com o melhor fornecimento de P no solo e em solução e pela melhor nutrição da planta em K, justificados pela correlação positiva entre a massa seca de parte aérea e raiz e o teor de P no solo ($r_{\text{parte aérea}}: 0,64, p \text{ valor}: 0,0001; r_{\text{raiz}}: 0,71, p \text{ valor}: 0,0001$), em solução ($r_{\text{parte aérea}}: 0,53, p \text{ valor}: 0,0038; r_{\text{raiz}}: 0,58, p \text{ valor}: 0,0013$) e K no tecido ($r_{\text{parte aérea}}: 0,47, p \text{ valor}: 0,0073; r_{\text{raiz}}: 0,52, p \text{ valor}: 0,0025$) (Figura 8). Por outro lado, os maiores níveis de Zn ($r: -0,60; p \text{ valor}: 0,0007$) e Mn ($r: -0,49; p \text{ valor}: 0,0078$) em solução reduziram o crescimento das plantas, efeito observado principalmente no tratamento com adubação mineral.

Figura 8 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) calculado a partir de quatro repetições de cada situação de amostragem (n = 32). Os quadrantes em branco são não significativos com $p < 0,05$.



As plantas com menor crescimento apresentaram aumento nos níveis dos pigmentos fotossintéticos como *chla*, *chlb* e carotenoides e índice SPAD evidenciando um efeito de diluição destes pigmentos justificado pelas correlações negativas com a MSPA (r_{chla} : - 0,58, p valor: 0,0005; r_{chlb} : - 0,65, p valor: 0,0001; $r_{carotenoides}$: - 0,52; p valor: 0,0021; r_{SPAD} : - 0,75, p valor: 0,0001). A concentração de Cu em solução foi reduzida pela elevação do pH. O teor de Cu na parte aérea apresentou correlação apenas com a atividade da enzima POD, demonstrando que plantas que apresentaram maior teor deste elemento resultaram em maior atividade desta enzima, porém não houve aumento significativo. A atividade da SOD apresentou correlação negativa com os pigmentos fotossintéticos, índice SPAD e o teor de N no tecido e ficou relacionada ao tratamento EST sem micorriza (EST-FMA).

5 DISCUSSÃO

Os altos teores de Cu disponível e em solução mostraram a baixa capacidade de sorção do solo arenoso após a contaminação. Os teores de Cu neste estudo estão próximos aos valores observados em solos de vinhedo da região da Campanha do Rio Grande do Sul ou de vinhedos de outras regiões do mundo (BRUNETTO et al., 2013; MIOTTO et al., 2017). Os níveis elevados deste metal reduzem o crescimento das plantas resultando em grave problema ambiental (DE CONTI et al., 2021). A adição de adubos orgânicos no solo arenoso resultou no aumento dos teores de nutrientes, o que favoreceu o crescimento da planta. O uso de adubos orgânicos em solos contaminados, além de aumentar a fertilidade do solo, promove benefícios relacionados a maior porosidade, aumento no teor de matéria orgânica, CTC e atividade biológica (BRAR et al., 2015; HU et al., 2021; MOCKEVICIENE et al., 2021; RIBEIRO et al., 2021).

O esterco bovino não tratado mostrou-se um ótimo fertilizante para o crescimento do feijão de porco em solo arenoso contaminado com Cu, principalmente devido à sua alta concentração de nutrientes. Porém, sua adequação para uso como fertilizante orgânico ocorre somente após uma análise criteriosa da presença de coliformes totais, fecais, fungos e bactérias patogênicas o que não foi realizado neste estudo. Segundo Alegbeleye e Sant'Ana (2020) embora o esterco bovino seja uma ótima fonte de nutrientes para as plantas, ele representa uma importante fonte de poluição ambiental pois pode apresentar *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *E.coli*, *Clostridium perfringens*, entre outros. Por outro lado, o vermicomposto não apresenta potencial de contaminação, pois a vermicompostagem é um tratamento biológico de resíduos orgânicos que promove a redução ou até mesmo a extinção de patógenos (LAZCANO et al., 2008).

O vermicomposto é um adubo com reconhecido potencial para aumentar a fertilidade do solo, principalmente incrementando os teores de P disponível e em solução, como observado neste estudo independente do tempo de maturação (ADEKIYA et al., 2020; LI et al., 2020; HU et al., 2021). Além disso, o vermicomposto atua na redução dos efeitos tóxicos do Cu nas plantas, seja pela melhor nutrição, complexação de metais ou mecanismos de indução de resistência (WYSZKOWSKA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; FERREIRA et al., 2018b; LIU et al., 2017; WANG et al., 2020). O vermicomposto auxilia também na formação de associação de FMA com raízes de plantas, devido à redução do estresse pelo Cu. Santana et al. (2015) verificaram que a aplicação de vermicomposto em um solo contaminado com Cu aumentou a taxa de colonização micorrizica em aproximadamente 30 % em relação ao

tratamento com adubação mineral. Somado a isso, o melhor suprimento em nutrientes aumenta o sucesso da fixação biológica de N, pois segundo Hack et al (2018), para que a fixação biológica de N ocorra a planta deve ser cultivada em um solo com nível mínimo de nutrientes disponíveis para que a associação de estabeleça de forma satisfatória.

O tempo de maturação do vermicomposto altera as suas propriedades químicas e biológicas, que resultam em diferenças no seu potencial de fertilizante e amenização dos efeitos tóxicos do Cu na planta (GARCÍA-SÁNCHEZ et al., 2017). O aumento do tempo de maturação do vermicomposto promove o acréscimo de ácidos húmicos de alto peso molecular e dos conteúdos de Ca, Zn e Mg, ao passo que pode diminuir outros parâmetros (pH, condutividade elétrica, teor de Cu) (BRIFHENTI et al., 2010; DOMÍNGUEZ et al., 2019; KOLBE et al., 2019; SANTANA et al., 2020). Por outro lado, em vermicompostos com reduzido tempo de maturação ocorre o aumento na concentração de ácidos orgânicos de baixo peso molecular e alta atividade enzimática e de microrganismos (SANTANA et al., 2020).

As plantas crescidas na presença do vermicomposto, especialmente de alta maturação (VAM), apresentaram aumento nos teores de Cu em parte aérea. O uso desses adubos aumenta o teor de C orgânico em solução formando complexos organometálicos, o que pode promover a maior absorção pela planta. Além disso, as plantas melhor nutridas aumentam seu potencial de absorver metais, ou seja, promove a melhoria em seu sistema de defesa o que resulta no aumento da capacidade de absorção (WYSZKOWSKA et al., 2013). Salati et al. (2010) verificaram que o uso de adubos orgânicos no cultivo de milho em solo contaminado por metais pesados representou o incremento de 302, 66, 184, 169 e 23 % para Cr, Cu, Ni, Zn e Pb acumulado em parte aérea, respectivamente.

A inoculação com FMA promoveu o maior crescimento de raízes e nódulos em *C. ensiformis*. O FMA atua na proteção da planta frente ao excesso de Cu no solo. O FMA aumenta o teor de P nas plantas, modificando inclusive os teores de P em solução, complexa o metal em hifas e em substâncias orgânicas, além de promover sinais moleculares diferenciais de defesa ao excesso de Cu (TIWARI et al., 2020). Somado a isso, o FMA apresenta reconhecido potencial em aumentar a fixação biológica de N. Os FMAs compartilham sinais moleculares, como a detecção de flavonoides, semelhantes aos observados durante a formação do rizóbio e isso contribui para o sucesso da fixação biológica de N como observado neste estudo, justificado pelos maiores teores de N nas plantas micorrizadas. Os flavonoides atuam na sinalização para formação da simbiose pelo fato de que estimulam o crescimento do fungo, facilitam a interação célula-célula, induzem a diferenciação morfológica (formação do apressório), aumentam os pontos de entrada dos fungos nas raízes, alteram a expressão gênica

durante o desenvolvimento da associação e atuam de forma comum na formação de simbiose rizóbio-leguminosa e micorrizas (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Outros mecanismos promovem o sinergismo entre FMA e rizóbio, entre eles a produção de auxinas, que estimulam a formação da raiz lateral micorrízica, o desenvolvimento de arbúsculos, promovem a organogênese dos nódulos e regulam a fixação de N (GOUGH et al., 2021). Adicionalmente, as plantas micorrizadas sob condições de estresse abiótico, como a contaminação por Cu, podem apresentar melhor desempenho na fixação biológica de N₂, possivelmente, em função do maior suprimento de P fornecido aos nódulos pela associação com FMAs, uma vez que o processo de fixação de N₂ tem alta demanda de energia para a atividade da nitrogenase (FRANSON et al., 1991). Segundo Soretire et al (2020) a deficiência de P reduz a translocação de ureídeos (ácido alantóico e alantoína) no xilema, reduzindo o potencial de fixação de N.

Além do maior crescimento de *C. ensiformis* nos três tratamentos com adubação orgânica, os maiores teores de Cu em parte aérea no tratamento com VAM resultaram em maior teor de Cu acumulado, refletindo nos altos valores de FB e IT neste tratamento. Na presença de VAM a planta apresentou melhor nutrição, principalmente em P. Somado a isso, o aumento no tempo de maturação do vermicomposto pode resultar em maior atividade de microrganismos benéficos e de enzimas como dehydrogenase, β -glucosidase, e fosfatase (GARCÍA-SÁNCHEZ et al., 2017) que auxiliam no crescimento da planta em solos contaminados.

A presença do FMA, independente do adubo utilizado, aumentou o teor de Cu acumulado nas raízes, resultando em um baixo IT nas plantas micorrizadas e promovendo a fitoestabilização do Cu. Segundo Meier et al. (2012), o FMA promove a complexação do Cu na parede fúngica. Além disso, ocorre a compartimentalização do Cu nos vacúolos de hifas e esporos dos FMA (AGUDELO, 2020), compartimentos subcelulares com funções metabólicas limitadas onde o metal causa menos dano. Também pode ocorrer a retenção do metal na glomalina, uma glicoproteína observada em zonas externas de hifas com propriedades ligantes que promovem a agregação do solo e a ligação de metais as partículas de solo (HE et al., 2020). Estes organismos podem desencadear respostas fisiológicas diferenciadas frente ao excesso do Cu (JIANG et al., 2016). Pérez et al. (2021) encontraram maior produção de pigmentos fotossintéticos e biomassa pelas plantas inoculadas com *Claroideoglossum claroideum* e a diminuição da disponibilidade de Cu no solo.

A melhor nutrição da planta favoreceu a manutenção da concentração de clorofila e carotenoides nas plantas micorrizadas nos tratamentos com VAM. O maior teor de P pelas plantas micorrizadas pode justificar a alta concentração de *chl a* no VAM (FERREIRA et al., 2015). De acordo com Wettstein et al (1995), o P contribui para a síntese de clorofila por meio

de sua presença na coenzima NADPH, essencial para reduzir a molécula de protoclorofila durante a fase III da síntese de clorofila. Além disso, maiores concentrações de *chl a* e *chl b* aumentam a quantidade de luz capturada pelas folhas e diminuem a possibilidade de danos adicionais ao aparato fotossintético atribuído a formação de radicais livres sob alta radiação (MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2000; KRANNER et al., 2002; BAGHERI et al., 2011; FERREIRA et al., 2015). Já nos tratamentos com adubação mineral também foram verificados altos valores de clorofila, carotenoides e índice SPAD. No entanto, devido ao reduzido crescimento da planta no tratamento MIN houve um efeito de concentração de pigmentos na parte aérea, como evidenciado pela correlação negativa entre esses dois atributos (TIECHER et al., 2016). Neste tratamento a planta foi afetada por níveis elevados de estresse, justificados pelas maiores concentrações de Mn em solução. Trentin et al. (2019) encontraram que o alto teor de Mn em parte aérea refletiu as altas concentrações de Mn em solução, que causaram fitotoxicidade resultando no reduzido desenvolvimento de videiras (porta-exerto Paulsen 1103) em solo contaminado com Cu.

A planta *C. ensiformis* pode ser utilizada em programas de fitorremediação em solos arenosos contaminados com Cu. No entanto, para aumentar o seu potencial fitorremediador devem ser utilizadas algumas estratégias como a adição de um vermicomposto de alta maturação e/ou a inoculação com fungo micorrizico arbuscular. A presença do vermicomposto aumenta os teores de nutrientes e pH no solo e promove a melhor nutrição da planta favorecendo o seu crescimento e aumentando a quantidade de Cu acumulada em parte aérea. O FMA promove a melhor nutrição da planta, reduz os danos oxidativos e promove o maior crescimento, principalmente de raízes. Além disso, o FMA atua como uma barreira ao transporte de Cu para a parte aérea das plantas favorecendo a sua manutenção no sistema radicular.

6 CONCLUSÃO

A aplicação de adubo mineral, esterco bovino e vermicompostos com diferentes tempos de maturação e a inoculação com FMA foram utilizados para aumentar a eficiência da fitorremediação de *C. ensiformis* em solo arenoso contaminado por Cu. A adição de adubos orgânicos, em especial o VAM, proporciona maior crescimento, aumenta a absorção de Cu e de outros nutrientes pela planta. A micorriza aumenta a produção de massa seca de nódulos e raízes, ameniza o estresse oxidativo, melhora a nutrição da planta e aumenta seu potencial fitoestabilizador. Dessa maneira, a associação entre os adubos orgânicos e micorriza pode ser indicada em programas de fitorremediação.

REFERÊNCIAS

- ADEKIYA, A. O.; EJUE, W. S.; OLAYANJU, A.; DUNSIN, O.; ABOYEJI, C. M.; AREMU, C.; ADEGBITE, K.; AKINPELU, O. Different organic manure sources and NPK fertilizer on soil chemical properties, grown, yield and quality of okra. **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-9, 2020.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Substance Priority List**. Atlanta, 2019. Disponível em: <<https://www.atsdr.cdc.gov/SPL/#2019spl>>. Acesso em: 28 out. 2021.
- AGUDELO, M. B. **Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares autóctones de vinhedos da região do Vale da Uva Goethe (SC) e seus efeitos no crescimento e parâmetros fisiológicos da videira**. 2020. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
- AGULLÓ, E.; MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, M; BUSTAMANTE, M. A; PÉREZ-MURCIA, M. D; PÉREZ-ESPINOSA; MORAL, R. Vermicomposting as an added-value post-treatment for livestock waste composts. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 46, n. 1, p. 208–218, 2015.
- ALEGBELEYE, O. O.; SANT’ANA, A. S. Manure-borne pathogens as an important source of water contamination: An update on the dynamics of pathogen survival/transport as well as practical risk mitigation strategies. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 227, p. 1-20, 2020.
- ALLEONI, L. R. F. INGLESIAS, C. S. M; MELLO, S. C; CAMARGO, O. A; CASAGRANDE, J. C; LAVORENTI, N. A. Atributos do solo relacionados a adsorção de cádmio e cobre em solos tropicais. **Acta. Sci. Agron.**, v. 27, n. 4, p. 729-737, 2005.
- ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. London: Chapman & Hall, 1995. 368 p.
- AMBROSINI, V. G.; ROSA, D. J; MELO, G. W. B; ZALAMENA, J; CELLA, C; SIMÃO, D. G.; SILVA, L. S; SANTOS, H. P; TOSELLI, M.; TIECHER, T. L; BRUNETTO, G. High copper content in vineyard soils promotes modifications in photosynthetic parameters and morphological changes in the root system of ‘Red Niagara’ plantlets. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 128, p. 89-98, 2018.
- ANTUNES, R. M.; CASTILHOS, R. M. V.; CASTILHOS, D. D.; LEAL, O. A; DICK, D. P.; ANDREAZZA, R. Transformações químicas dos ácidos húmicos durante o processo de vermicompostagem de resíduos orgânicos. **Eng. Sanitária e Ambiental**, v. 20, n 4, p. 699-708, 2015.
- ARAÚJO, W. S. Influência das propriedades físicas e químicas de solos intemperizados na adsorção de chumbo, cobre e zinco. **Floresta e Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 167-180, 2000.
- ARAÚJO, W. S.; AMARAL, N. M. B; MAZUR, N; GOMES, P. C. Relação entre adsorção de metais pesados e atributos químicos e físicos de classes de solos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, p. 17-27, 2002.

- AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M. SMITH, R. J.; LEA, P. J. et al. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and catalase deficient mutant of barley. **Physiol Plant**, v. 104, p. 280-292, 1998.
- BAGHERI, V. SHAMSHIRI, M. H.; SHIRANI, H.; ROOSTA, H. R. Effect of mycorrhizal inoculation on ecophysiological responses of pistachio plants grown under different water regimes. **Photosynthetica**, v. 49, n. 4, p. 531-538, 2011.
- BARANCÍKOVÁ, G.; MAKOVNÍKOVÁ, J. The influence of humic acid quality on the sorption and mobility of heavy metals. **Plant Soil Environ.**, v. 49, n. 12, p. 565-571, 2003.
- BEAUCHAMP C. O.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. Improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. **Anal Biochemistry**, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BERTI, W.R; CUNNINGHAM, S. D. Phytoestabilization of metals. In: RASKIN, I.; ENSLEY, B. D. **Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment**. New York: Wiley, 2000. p. 71-88.
- BERTOLAZI, A. A.; CANTON, G. C; AZEVEDO, I. G; CRUZ, Z. M.; SOARES, D. N.; CONCEIÇÃO, J. M.; SANTOS, W. O.; RAMOS, A. C. O papel das ectomicorrizas na biorremediação de metais pesados no solo. **Natureza Online**, v. 8, p. 24-31, 2010.
- BHAT S. A.; SINGH, J.; VIG, A. P. Earthworms as organic waste managers and biofertilizer producers. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, p. 1073-1086, 2018.
- BIRUNTHA, M.; KARMEGAM, N; ARCHANA, J; SELVI, B. K.; PAUL, J. A. J.; BALAMURALIKRISHNAN, B.; CHANG, S. W.; RAVIDRAN, B. Vermiconversion of biowastes with low-to-high C/N ratio into value added vermicompost. **Journal Pre-proofs**, p. 1 -27, 2019.
- BOUCHÉ, M. B. **Lombriciens de France: écologie et systématique**. Paris: Institut national de la recherche agronomique, 1972.
- BRAR, B. S.; SINGH, J.; SINGH, G.; KAUR, G. Effects of long term application of inorganic and organic fertilizers on soil organic carbon and physical properties in maize-wheat rotation. **Agronomy**, v. 5, p. 220-237, 2015.
- BREMNER, J. M.; MULVANEY, C. S. Nitrogen-total. **Methods of soil analysis: Part**, v. 2, p. 595-624, 1982.
- BRIGHENTI, C. R. G.; REIS, E. L.; REIS, C. Características físico-químicas de ácidos húmicos em diferentes etapas da vermicompostagem. **Ecl. Quím.**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 69-82, 2010.
- BRUNETTO, G.; MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; SCHMITT, D. E; HEINZEN, J.; MORAES, M. P.; CANTON, L.; TIECHER, T. L.; COMIN, J. J.; GIROTTO, E. Mobility of copper and zinc fractions in fungicide-amended vineyard sand soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 5, p. 609-624, 2013.

BRUNETTO, G.; ROSA, D. J.; AMBROSINI, V. G.; HEINZEN, J.; FERREIRA, P. A. A.; CERETTA, C. A.; SOARES, C. R. F. S.; MELO, G. W. B.; SORIANI, H. H.; NICOLOSO, F. T.; FARIAS, J. G.; DE CONTI, L.; SILVA, L. O. S.; SANTANA, N.; COUTO, R. R.; JACQUES, R. J. S.; TIECHER, T. L. Use of phosphorus fertilization and mycorrhization as strategies for reducing copper toxicity in young grapevines. **Scientia Horticulturae**, v. 248, p. 176-183, 2019.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J. L.; FIGUEROA, M. E.; CANTOS, M. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178, 2015.

CAVALLARO N.; MCBRIDE M. B. Zinc and copper sorption and fixation by an acid soil clay: effect of selective dissolutions. **Soil Sci. Soc. AM. J.**, v. 48, p. 1050-1054, 1984.

CHRISTENSEN B. T. Physical fractionation of soil organic matter in primary particle size and density separates. **Advances in soil science**, v. 20, p. 1-90.

CONAMA. Resolução n. 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre os critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto a presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 dez. 2009, n. 249, p. 81-84.

CQFS-RS/SC – Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC. **Manual de calagem e adubação para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 11 ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2016. 375 p.

DE CONTI, L.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; LOURENZI, C. R.; GIROTTO, E.; LORENSINI, F.; TIECHER, T. L.; MARCHEZAN, C.; ANCHIETA, M. G.; BRUNETTO, G. Soil solution concentrations and chemical species of copper and zinc in a soil with a history of pig slurry application and plant cultivation. **Agric. Ecosyst. Environ.**, v. 216, p. 374-386, 2016.

DE CONTI, L.; MARQUES, A. C. R.; CERETTA, C. A.; TAROUCO, C. P.; NICOLOSO, F. T.; FERREIRA, P. A. A.; TIECHER, T. L.; TASSINARI, A.; SILVA, I. C. B.; BRUNETTO, G. Tolerance and phytoremediation potential of grass species native to South American grasslands to copper-contaminated soils. **International Journal of Phytoremediation**, v. 23, n. 7, p. 726-735, 2021.

DOMÍNGUEZ, J.; AIRA, M.; KOLBE, A. R.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; PÉREZ-LOSADA, M. Changes in the composition and function of bacterial communities during vermicomposting may explain beneficial properties of vermicompost. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2019.

ECKHARDT, D. P. et al. Mineralization and efficiency index of nitrogen in cattle manure fertilizers on the soil. **Ciência Rural**, v.46, n.3, 2016.

FAN, Y.; LI, Z.; ZHOU, T.; ZHOU, S.; WU, L.; LUO, Y.; CHRISTIE, P. Phytoextraction potential of soils highly polluted with cadmium using the cadmium/zinc hyperaccumulator

Sedum plumbizincicola. **International Journal of Phytoremediation**, v. 21, n. 8, p. 733-741, 2019.

FERNÁNDEZ-GÓMEZ, M. J.; QUIRANTES, M.; VIVAS, A.; NOGALES, R. Vermicomposts and/or arbuscular mycorrhizal fungal inoculation in relation to metal availability and biochemical quality of a soil contaminated with heavy metals. **Water, Air, & Soil Pollution**, v.223, p. 2707-2718, 2012.

FERREIRA, P. A. A.; CERETTA, C. A.; SORIANI, H. H.; TIECHER, T. L.; SOARES, C. R. F. S.; ROSSATO, L. V.; NICOLOSO, F. T.; BRUNETTO, G.; PARANHOS, J. T. *Rhizophagus clarus* and phosphate alter the physiological responses of *Crotalaria juncea* cultivated in soil with a high Cu level. **Applied Soil Ecology**, v. 91, p. 37-47, 2015.

FERREIRA, P. A. A.; DAHMER, S. F. B; BACKES, T.; SILVEIRA, A. O.; JACQUES, R. J. S.; ZAFAR, M.; PAULETTO, E. A; SANTOS, M. A. O; SILVA, K.; GIACHINI, A. J.; ANTONIOLLI, Z. I. Isolation, characterization and symbiotic efficiency of nitrogen-fixing and heavy metal-tolerant bacteria from a coalmine wasteland. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 43, p. 1-17, 2018a.

FERREIRA, P. A. A.; LOURENZI, C. R.; TIECHER, T.; TIECHER, T. L.; RICACHENEVSKY, F. K.; BRUNETTO, G.; GIACHINI, A. J.; SOARES, C. R F. S.; Physiological, biochemical changes, and phytotoxicity remediation in agricultural plant species cultivated in soils contaminated with copper and zinc. In: **Plants under metal and metalloid stress**. Springer, Singapore, 2018b. p. 29-79.

FERRO, A. M.; SIMS, R. C.; BUGBEE, B. Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. **Environ. Qual.**, v. 23, p. 272-279, 1994.

FRANSON, R. L.; BROWN, M. S.; BETHLENFALVAY, G. J. The *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbiosis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 83, p. 476-482, 1991.

GARCIA, K. G. V.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F. M.; MARTINS, C. M.; SILVA JR, J. M. T.; CUNHA, C. S. M. Arbuscular mycorrhizal fungi in the phytostabilization of soil degraded by manganese mining. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 12, p. 192-202, 2018.

GARCÍA-SÁNCHEZ-, M.; TAUSNEROVÁ, H.; HANC, A.; TLUSTOS, P. Stabilization of different starting materials through vermicomposting in a continuous-feeding system: Changes in chemical and biological parameters. **Waste Management**, p. 1-10, 2017.

GARDEZI, A. K.; MÁRQUEZ-BERGER, S. R.; FIQUEROA-SANDOVAL, B.; FLORES-MAGDALENO, H.; LARQUÉ-SAAVEDRA, U.; ALMAGUER-VARGAS, G.; ESCALONA-MAURICE, M. J. Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) grown affected by irrigation from two sources of water mapped with gps, organic matter, and associated with *Glomus* intrarradices. **Geoscience and Remote Sensing Symposium**, p. 137-140, 2014.

GIANNOPOLITIS, C. N.; REIS, S. K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

GIROTTTO, E. Alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas cultivadas em solos com acúmulo de cobre e zinco. 2010. 151 f. **Tese** (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytol**, v. 84, p. 489–500, 1980.

GOUGH, E. C.; OWEN, K. J.; ZWART, R. S.; THOMPSON, J. P. Arbuscular mycorrhizal fungi acted synergistically with *Bradyrhizobium* sp. to improve nodulation, nitrogen fixation, plant growth and seed yield of mung bean (*Vigna radiata*) but increased the population density of the root-lesion nematode *Pratylenchus thornei*. **Plant Soil**, v. 465, p. 431-452, 2021.

GU, H.; ZHOU, Z.; GAO, Y.; YUAN, X.; AI, Y.; ZHANG, J.; ZUO, W.; TAYLOR, A.; NAN, S.; LI, F. The influences of arbuscular mycorrhizal fungus on phytostabilization of lead/zinc tailings using four plant species. **International Journal of Phytoremediation**, v. 19, n. 9, p. 739-745, 2017.

HACK, C. M.; PORTA, M.; SHÄUFELE, R.; GRIMOLDI, A. A. Arbuscular mycorrhiza mediated effects on growth, mineral nutrition and biological nitrogen fixation of *Melilotus alba* Med. in a subtropical grassland soil. **Applied Soil Ecology**, p. 1-7, 2018.

HAYMANN, D. S.; MOSSE, B. Plant growth response to vesicular arbuscularmycorrhiza. I. Growth of endogone inoculated plants in phosphate deficient soils. **New Phytol**, v. 70, p. 19–27, 1971.

HE, Y.; YANG, R.; LEI, G.; LI, B.; JIANG, M.; YAN, K.; ZU, Y.; ZHAN, F.; LI, Y. Arbuscular mycorrhizal fungi reduce cadmium leaching from polluted soils under simulated heavy rainfall. **Environmental Pollution**, v. 263, p. 1-11, 2020.

HU, X.; HUANG, X.; ZHAO, H.; LIU, F.; WANG, L.; ZHAO, X.; GAO, P.; LI, X.; JI, P. Possibility of Using Modified Fly Ash and Organic Fertilizers for Remediation of Heavy-Metal-Contaminated Soils. **Journal of Cleaner Production**, p. 1-39, 2021.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção Agrícola – Lavoura Permanente. 2020. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/15/12066>>. Acesso em: 11 out. 2021.

INOCENCIO, J. P. Evaluación de la adición de vermicomposta y hongos micorrícicos en el crecimiento de plántulas de limón. 2013. 86 f. **Tese** (Ciência de Produção Agrícola e Sustentável) – Instituto Politécnico Nacional, Jiquilpan, Michoacán, México, 2012.

JADIA, C. D.; FULEKAR, M. Phytoremediation: the application of vermicompost to remove zinc, cadmium, copper, nickel and lead by sunflower plant. **Environmental Engineering and Management Journal**, v. 5, p. 547-558, 2008.

JIANG, Q.; ZHOU, F.; LONG, S.; ZHAO, H.; YANG, D.; YE, Z.; LI, S.; JING, Y. Can arbuscular mycorrhizal fungi reduce Cd uptake and alleviate Cd toxicity of *Lonicera japonica* grown in Cd-added soils? **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016.

- JOHNSEN, T. N.; MORTON, H. L. Long-term tebuthiuron content of grasses and shrubs on semiarid rangelands. **Journal of Range Management**, v. 44, n. 3, p. 249-253, 1991.
- JONES, S. et al. Biochar and compost amendments enhance copper immobilization and support plant growth in contaminated soils. **Journal of Environmental Management**, p. 1-12, 2016.
- KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.
- KARAMI, N.; CLEMENTE, R.; MORENO-JIMÉNEZ, E.; LEPP, N. W.; BEELEY, L. Efficiency of green waste compost and biochar soil amendments for reducing lead and copper mobility and uptake to ryegrass. **Journal of Hazardous Materials**, v. 191, p. 41-48, 2011.
- KIM, K. J.; KLALEKUZZAMAN, M.; SUH, J. N.; KIM, H. J.; SHAGOL, C.; KIM, H.; KIM, H. J. Phytoremediation of volatile organic compounds by indoor plants: a review. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 59, p. 143-157, 2018.
- KLAUBERG-FILHO, O. et al. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. In: VIDAL-TORRADO et al. **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: UFV, 2005. p. 85-114.
- KLUTE, A. Water retention: laboratory methods. In: KLUTE, A. **Methods of soil analysis: physical and mineralogical methods**. 2 ed. Madison: American Society of Agronomy, 1986. p. 635-660.
- KOLBE, A. R.; AIRA, M.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; PÉREZ-LOSADA, M.; DOMÍNGUEZ, J. Bacterial succession and functional diversity during vermicomposting of the white grape marc *Vitis vinifera* v. Albariño. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019.
- KOPITTKE, P. M.; MENZIES, N. W. Effect of Cu toxicity on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Plant Soil**, v. 279, p. 287-296, 2006.
- KRANNER, I.; BECKETT, R. P.; WORNIK, S.; ZORN, M.; PFEIFHOFER, H. W. Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. **The Plant Journal**, v. 31, n. 1, p. 13-24, 2002.
- LAHBOUKI, S.; ANLI, M.; GABARDI, S.; MOKHTAR, M.; LAOUANE, R. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost supplementation on growth, phenolic content and antioxidant activity of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*). **Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all aspects of plant biology**, p. 1-12, 2021.
- LATEF, A. A. H. A. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and copper on growth, accumulation of osmolyte, mineral nutrition and antioxidant enzyme activity of pepper (*Capsicum annum* L.). **Mycorrhiza**, v. 21, p. 495-503, 2011.
- LAZCANO, C.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; DOMÍNGUEZ, J. Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. **Chemosphere**, v. 72, p. 1013-1019, 2008.

- LEITA, L.; NOBILE, M.; MONDINI, C., MUHLBACHOVA, G.; MACHIOL, L.; BRAGATO, G.; CONTIN, M. Influence of inorganic and organic fertilization on soil microbial biomass, metabolic quotient and heavy metal bioavailability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 28, p. 371-376, 1999.
- LEQUEUX, H.; HERMANS, C.; LUTTS, S.; VERBRUGGEN, N. Plant physiology and biochemistry response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Biochem.**, v. 48, p. 673-682, 2010.
- LI, P.; WU, M.; KANG, G.; ZHU, B.; LI, H.; HU, F.; JIAO, J. Soil quality response to organic amendments on dryland red soil in subtropical China. **Geoderma**, v. 373, p. 1-12, 2020.
- LIU, Y. N.; GUO, Z. H.; XIAO, X. Y.; WANG, S.; JIANG, Z. C.; ZENG, P. Phytostabilisation potential of giant reed for metals contaminated soil modified with complex organic fertiliser and fly ash: A field experiment. **Science of the Total Environment**, v. 576, p. 292-302, 2017.
- LUO, J.; LI, X.; JIN, Y.; TRAORE, I.; DONG, L.; YANG, G.; WANG, Y. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi *Glomus mosseae* on the Growth and Medicinal Components of *Dyosma versipellis* Under Copper Stress. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, p. 1-7, 2020.
- MAJI, D.; MISRA, P.; SINGH, S.; KALRA, A. Humic acid rich vermicompost promotes plant growth by improving microbial community structure of soil as well as root nodulation and mycorrhizal colonization in the roots of *Pisum sativum*. **Applied Soil Ecology**, p. 1-12, 2016.
- MAJI, D.; SINGH, M.; WASNIK, K.; CHANOTIYA, C. S.; KALRA, A. The role of a novel fungal strain *Trichoderma atroviride* RVF3 in improving humic acid content in mature compost and vermicompost via ligninolytic and celluloxylanolytic activities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, p. 1584-1596, 2015.
- MALLMANN, F. J. K.; MIOTTO, A.; SANTANA, N. A.; JACQUES, R. J. S. Manejos indicados pela pesquisa para mitigar o excesso de metais pesados nos solos do Sul do Brasil. In: TIECHER, T. **Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no Sul do Brasil**: práticas alternativas de manejo visando a conservação do solo e da água. Porto Alegre: UFRGS, 2016. cap. 8, p. 118-140.
- MARQUES, A. P. G. C. Remediation of heavy metal contaminated soils: phytoremediation as a potentially promising clean-up technology. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v.39, p.622-64, 2009.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2 ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.
- MCNEIL, W. K.; STRITZKE, J. F.; BASLER, E. Absorption, translocation and degradation of tebuthiuron and hexazinone in woody species. **Weed Sci.**, v. 32, p. 739-743, 1984.

- MEIER, S.; BORIE, F.; BOLAN, N.; CORNEJO, P. Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi. **Environmental Science and Technology**, v. 42, p. 741-775, 2012.
- MELO, E. E. C.; NASCIMENTO, C. W. A.; SANTOS, A. C. Q.; SILVA, A. S. Disponibilidade e fracionamento de Cd, Pb, Cu e Zn em função do pH e tempo de incubação com o solo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 776-784, 2008.
- MELVILLE, L.; BRUNDRETT, M.; PETERSON, L. **Practical Methods in Mycorrhiza Research**: Based on a Workshop Organized in Conjunction with the Ninth North American Conference on Mycorrhizae. Guelph: University of Guelph, 1994.
- MEURER, E. J. **Fundamentos de química do solo**. 6 ed. Porto Alegre: UFRGS, 2017. 266 p.
- MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 4, p. 523-530, 2006.
- MICHAUD, A. M. CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum L.*). **Plant Soil**, v. 310, p. 151-165, 2008.
- MIOTTO, A. Cobre em solos arenosos sob vinhedos e resposta bioquímica-fisiológica de videiras em produção. 96 f. **Tese** (Doutorado em Ciência do Solo) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.
- MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, F. T.; GIROTTI, E.; FARIAS, J. G.; TIECHER, T. L.; DE CONTI, L.; TRENTIN, G. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. **Plant and soil**, v. 374, p. 593-610. 2014.
- MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; GIROTTI, E.; TRENTIN, G.; KAMINSKI, J.; DE CONTI, L.; MORENO, T.; ELENA, B.; BRUNETTO, G. Copper Accumulation and Availability in Sandy, Acid, Vineyard Soils. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 48, n. 10, p. 1167-1183. 2017.
- MOCKEVICIENE, I.; REPSIENE, R.; AMALEVICIUTE-VOLUNGE, K.; KARCAUSKIENE, D.; SLEPETINE, A.; LEPANE, V. Effect of long-term application of organic fertilizers on improving organic matter quality in acid soil. **Archives of Agronomy and Soil Science**, p. 1-13, 2021.
- MORAES, M. T.; DEBIASI, H.; FRANCHIN, J. C.; SILVA, V. R. Benefícios das plantas de cobertura sobre as propriedades físicas do solo. **Manejo e conservação do solo e da água em pequenas propriedades rurais no Sul do Brasil**: práticas alternativas de manejo visando a conservação do solo e da água. Porto Alegre: UFRGS, 2016. cap. 3, p. 34-48.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2 ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.
- MOTAMEDI, A.; JAFARPOUR, M.; OSHAGI, M. Improving the vermicompost quality by using horticultural and agronomic residues. **Journal of Plant Nutrition**, p. 1-13, 2021.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A. Modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. **Anal Chim Acta**, v. 27, p. 31–36, 1962.

MUNNÉ-BOSCH, S.; ALEGRE, L. Changes in carotenoids, toropherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus offinalis* plants. **Planta**, v. 210, p. 925-931, 2000.

NANDA, R.; AGRAWAL, V. Elucidation of zinc and copper induced oxidative stress, DNA damage and activation of defense system during seed germination in *Cassia agustifolia* Vahl. **Environmental and Experimental Botany**, v. 125, p. 31-41, 2016.

NOVO, L. A.; COVELO, E. F.; GONZÁLEZ, L. The potential of *Salvia verbenaca* for phytoremediation of copper mine tailings amended with technosol and compost. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 224, n. 4, p. 1-9, 2013.

OLIVEIRA, S. M.; CAMPOS, M. A. S.; SILVA, F. S. B. Arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost to maximize the production of foliar biomolecules in *Passiflora alata* Curtis seedlings. **J. Sci. Food Agric.**, p. 1-7, 2014.

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation Technol-ogy: Hyper-accumulation Metals in Plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 184, n. 1, p. 105-126, 2007.

PÉREZ, R.; TAPIA, Y.; ANTILÉN, M.; CASANOVA, M.; VIDAL, C.; SANTANDER, C.; APONTE, H.; CORNEJO, P. Interactive effect of compost application and inoculation with the fungus *Claroideoglomerus claroideum* in *Oenothera picensis* plants growing in mine tailings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 1-8, 2021.

PIEROZAN, V. L. A produção de uva orgânica na Serra Gaúcha: o caso dos agricultores orgânicos de Cotiporã / RS. **Geographia Meridionalis**, v. 4, n. 2, p. 168-184, 2018.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annu. Rev. Plant. Biol.**, v. 56, p. 15-39, 2005.

RADÜNZ, A. L.; SCHÖFFEL, E. R.; BORGES, C. T.; MALGARIM, M. B.; PÖTTER, G. H. Necessidades térmicas de videiras na região da Campanha do Rio Grande do Sul – Brasil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 626-632, 2015.

REPETTO, O.; BESTEL-CORRE, G.; DUMAS-GAUDOT, E. BERTA, G.; GIANINAZZI-PEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Targeted proteomics to identify cadmium induced protein modifications in *Glomus mosseae* inoculated pea roots. **New Phytologist**, v. 157, n. 3, p. 555-567, 2003.

RIBEIRO, S. S.; SCHWARTZ, G.; SILVA, A. R.; CRUZ, D. C.; NETO, A. B. B.; GAMA, M. A. P.; MARTINS, W. B. R.; BARBOSA, S. R.; LOPES, J. C. A. Soil properties under different supplementary organic fertilizers in a restoration site after kaolin mining in the Eastern Amazon. **Ecological Engineering**, v. 170, p. 1-9, 2021.

RIZWAN, M. et al. Cadmium phytoremediation potential of Brassica crop species: a review. **Science of the Total Environment**, v. 631, p. 1175-1191, 2018.

RUSCITTI, M. et al. Improvement of copper stress tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 29, p. 37-49, 2017.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4 ed. California: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682 p.

SALATI, S.; QUADRI, G.; TAMBONE, F.; ADANI, F. Fresh organic matter of municipal solid waste enhances phytoextraction of heavy metals from contaminated soil. *Environmental Pollution*, v. 158, p. 1899-1906, 2010.

SANTANA, N. A.; FERREIRA, P. A. A.; SORIANE, H. H.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, F. T.; ANTONIOLLI, Z. I.; JACQUES, R. J. S. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on copper phytoremediation in a sandy soil. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 172-182, 2015.

SANTANA, N. A.; JACQUES, R. J. S.; ANTONIOLLI, Z. I.; MARTÍNEZ-CORDEIRO, H.; DOMÍNGUEZ, J. Changes in the chemical and biological characteristics of grape marc vermicompost during a two-year production period. **Applied Soil Ecology**, v. 154, p. 1-9, 2020.

SANTANA, N. A.; MORALES, C. A. S.; JACQUES, R. J. S. **Estratégias biológicas na fitorremediação do cobre**. 1 ed. Porto Alegre: PLUS/Simplíssimo, 2019.

SANTANA, N. A.; RABUSCKE, C. M.; SOARES, V. B.; SORIANE, H. H. Vermicompost dose and mycorrhization determine the efficiency of copper phytoremediation by *Canavalia ensiformis*. **Environ Science and Pollution Research**, v. 25, n. 13, p. 12663-12677, 2018.

SANTIBÁÑEZ, C.; VERDUGO, C.; GINOCCHIO, R. Phytostabilization of copper mine tailings with biosolids: implications for metal uptake and productivity of *Lolium perenne*. **Science of Total Environment**, v. 395, p. 1-10, 2008.

SCHMIDT, W.; BARTELS, M.; TITTEL, J.; FÜHNER, C. Physiological effects of copper on iron acquisition processes in *Plantago*. **New Phytol**, v. 135, p. 659-666, 1997.

SCHWITZGUÉBEL, J. P. Phytoremediation of soils contaminated by organic compounds: hype, hope and facts. **J Soils Sediments**, v. 17, p. 1492-1502, 2017.

SHELDON, A. R.; MENZIES, N. W. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. **Plant Soil**, v. 278, p. 341-349, 2005.

SILVA, S. SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S. Fungos micorrízicos no crescimento e extração de metais pesados pela *Brachiaria decumbens* Stapf. em solo multicontaminado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p. 1749-1757, 2006.

SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. D.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010.

SOOBHANY, N.; MOHEE, R.; GARG, V. K. Experimental process monitoring and potential of *Eudrilus eugeniae* in the vermicomposting of organic solid waste in Mauritius. **Ecological Engineering**, v. 84, p. 149-158, 2015.

SORETIRE, A. A.; ADEYEMI, N. O.; ATAYESE, M. O.; SAKARIYAWO, O. S.; ADEWUNMI, A. Nodulation and biological nitrogen fixation in soybean (*Glycine max* L.) as influenced by phosphorus fertilization and arbuscular mycorrhizal inoculation. **Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment**, v. 12, p. 22-44, 2020.

SOUZA L. H.; NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. H.; VILLANI, E. M. A. Efeito do pH do solo rizosférico e não rizosférico de plantas de soja inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* na absorção de boro, cobre, ferro, manganês e zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1641-1652, 2010.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**: Genesis, composition, reactions. 2 ed. New York: John Wiley, 1994. 496 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TEAM, R. CORE. **A language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2020.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. rev. e ampl. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174 p.

TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. **Manual de métodos de análise de solo**. 3 ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa, 2017. 573 p.

TIWARI, J.; MA, Y.; BAUDDH, K. Arbuscular mycorrhizal fungi: an ecological accelerator of phytoremediation of metal contaminated soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, p. 1-33, 2020.

TIECHER, T. L.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; LOURENZI, C. R.; TIECHER, T.; GIROTTO, E.; NICOLOSO, F. T.; SORIANE, H. H.; DE CONTI, L.; MIMMO, T.; CESCO, S.; BRUNETTO, G. The potential of *Zea mays* L. in remediating copper and zinc contaminated soils for grapevine production. **Geoderma**, v. 262, p. 52-61, 2016.

TIECHER, T. L.; TIECHER, T.; CERETTA, C. A.; FERREIRA, P. A. A.; NICOLOSO, F. T.; SORIANE, H. H.; DE CONTI, L.; KULMANN, M. S. S.; SCHNEIDER, R. O.; BRUNETTO, G. Tolerance and translocation of heavy metals in young grapevine (*Vitis vinifera*) grown in sandy acidic soil with interaction of high doses of copper and zinc. **Scientia Horticulturae**, v. 222, p. 203-212, 2017.

TRENTIN, E.; FACCO, D. B.; HAMMERSCHMITT, R. K.; FERREIRA, P. A. A.; MORSCH, L.; BELLES, S. W.; RICACHENEVSKY, F. K.; NICOLOSO, F. T.; CERETTA, C. A.; TIECHER, T. L.; TAROUCO, C. P.; BERGHETTI, A. L. P.; TOSELLI, M.; BRUNETTO, G. Potential of vermicompost and limestone in reducing copper toxicity in young grapevines grown in Cu-contaminated vineyard soil. **Chemosphere**, v. 226, p. 421-430, 2019.

TRINDADE, A. V. et al. Efeitos de fungos ectomicorrízicos na resposta de mudas de *Eucalyptus grandis* a enxofre no solo. **Revista Árvore**, v. 25, n. 2, p. 175-181, 2001.

VASCONCELLOS, M. C. Fitorremediação: uma proposta de descontaminação do solo. **Estud. Biol., Ambiente Divers.**, v. 34, n. 83, p. 261-267, 2012.

VENDRUSCOLO, D. Seleção de plantas para fitorremediação de solo contaminado com cobre. 2013. 57 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência do Solo) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

VENDRUSCULO, D. et al. Differential behavior of summer cover crops in the absorption and translocation of copper. **Ciência Rural**, v. 48, p. 1-11, 2018.

WANG, J.; FENG, X.; ANDERSON, C. W. N.; XING, Y.; SHANG, L. Remediation of mercury contaminated sites – A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 221–222, n. 30, p. 1-18, 2012.

WANG, Q.; HUANG, Q.; GUO, G.; QIN, J.; LUO, J.; ZHU, Z.; HONG, Y.; XU, Y.; HU, S.; HU, W.; YANG, C.; WANG, J. Reducing bioavailability of heavy metals in contaminated soil and uptake by maize using organic-inorganic mixed fertilizer. **Chemosphere**, v. 261, p. 1-10, 2020.

WENG, L. et al. Complexation with dissolved organic matter and solubility control of heavy metals in a sandy soil. **Environ. Sci. Technol.**, v. 36, p. 4804-4810. 2002.

WETTSTEIN, D. V.; GOUGH, S.; KANNANGARA, C. G. Chlorophyll Biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1039-1057, 1995.

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

WYSZKOWSKA, J.; BOROWIK, A.; KUCHARSKI, J.; BACMAGA, M.; TOMKIEL, M.; BOROS-LAJSZNER, E. The effect of organic fertilizers on the biochemical properties of soil contaminated with zinc. **Plant Soil Environ**, v. 59, n. 11, p. 500-504, 2013.

YRUELA, I. Copper in plants. **Braz. J. Plant Physiol.**, v. 17, n. 1, p.145-156, 2005.

ZERAIK, A. E. et al. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v. 31, p. 731–734, 2008.