

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR NORTE - RS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA:
AGRICULTURA E AMBIENTE**

**EUCALIPTO E ECTOMICORRIZAS PARA
FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS
COM ZINCO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Sidinei Wolnei Weirich

Frederico Westphalen, RS, Brasil.

2013

**EUCALIPTO E ECTOMICORRIZAS PARA
FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS
COM ZINCO**

Sidinei Wolnei Weirich

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Ferreira da Silva

Frederico Westphalen, RS, Brasil.

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo autor.

Weirich, Sidinei Wolnei

Eucalipto e ectomicorrizas para fitorremediação de solos contaminados com zinco / Sidinei Wolnei Weirich. – 2013.

97 p.; 30 cm

Orientador: Rodrigo Ferreira da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Educação Superior Norte do Rio Grande do Sul *campus* Frederico Westphalen, Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente, RS, 2013.

1. Contaminação do solo 2. Simbiose 3. Tolerância. 4 Metal pesado I. Silva, Rodrigo Ferreira da II. Título.

© 2013

Todos os direitos autorais reservados a Sidinei Wolnei Weirich. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Linha Sete de Setembro s/n – BR 386, km 40. CEP 98400-000 - Frederico Westphalen, RS, Brasil.

Fone (54) 9992 8295; Endereço eletrônico: sidiww@hotmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Educação Superior Norte - RS
Programa de Pós-Graduação em Agronomia:
Agricultura e Ambiente**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**EUCALIPTO E ECTOMICORRIZAS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE
SOLOS CONTAMINADOS COM ZINCO**

elaborado por
Sidinei Wolnei Weirich

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Rodrigo Ferreira da Silva, Dr.
(Presidente/Orientador)

Edison Rogério Perrando, Dr. (UFSM)

Márcia Matsuoka Rosa, Dra. (UFMT)

Frederico Westphalen, 27 de fevereiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade da existência.

Em especial aos meus pais, Silvio Weirich e Voni Weirich, e a minhas irmãs, Vanilde e Vania, pelo apoio incondicional, amor, compreensão e pela viabilidade dos meus sonhos.

Ao Professor orientador Rodrigo Ferreira da Silva, pela honra de ser seu orientado, pela orientação, ensinamentos e informações que serão válidos para toda a vida, e pela amizade.

Ao Professor Edison Rogério Perrando, pela orientação e auxílio na parte prática do trabalho, e pela amizade.

Ao Professor Clovis Orlando Da Ros, pela oportunidade de ingresso na iniciação científica, e pela orientação durante a graduação.

A CAPES pela bolsa de mestrado.

Ao amigo Maurício R. Cherubin pela troca de idéias e informações.

Aos amigos, Alex Dellai, Carlos Busanello, Charles Maffra, Cristiano Fabbris, Edson Miguel Telles da Rocha, Luciano Schwerz, Mateus Tonini Eitelwein, Moacir Tuzzin, Maurício R. Cherubin, Mairo Piovesan, Renes Rossi Pinheiro e Sylvio L. R. Trentin, pelo apoio, ajuda, empréstimos, momentos de estudo e pelos muitos momentos de alegria e descontração.

Aos colegas do grupo de pesquisa, Alex Dellai, André Luis Grolli, Douglas Scheid, Hazael Soranzo de Almeida, Helena Trombeta, Maiara Casanova, Patricia Viel, etc., que não mediram esforços no auxílio da condução dos trabalhos.

À Denize Dal Forno pelo companheirismo, compreensão e apoio nesta etapa que passamos. Por ter feito parte desta caminhada e conquista.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Agronomia – Agricultura e Ambiente/UFSM-FW, pelos ensinamentos e orientações.

A Universidade Federal de Santa Maria, campus de Frederico Wstphalen – RS, pela área experimental, laboratórios, equipamentos, etc.

Ao Estado Brasileiro, pelo ensino superior gratuito disponibilizado no Norte do RS, facilitando o acesso logístico ao ensino superior.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, o meu muito obrigado.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente
Universidade Federal de Santa Maria

EUCALIPTO E ECTOMICORRIZAS PARA FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM ZINCO

AUTOR: SIDINEI WOLNEI WEIRICH
ORIENTADOR: RODRIGO FERREIRA DA SILVA
Frederico Westphalen, RS 27 de fevereiro de 2013.

O crescimento populacional, desenvolvimento tecnológico humano, e a intensificação das atividades antrópicas no meio ambiente, tem gerado volumes consideráveis de resíduos industriais, agrícolas e urbanos, que ao serem aplicados no solo, podem contaminá-lo com metais pesados, dentre eles o zinco (Zn). Ao estar presente em altos teores no solo este elemento é fitotóxico para a maioria das culturas agrícolas, inutilizando áreas de cultivo, tornando-se um risco a saúde humana e ao meio ambiente. Áreas contaminadas por Zn necessitam ser recuperadas. Neste intuito, este trabalho teve o objetivo de avaliar o crescimento de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, e o efeito da associação com isolados ectomicorrízicos no crescimento de eucalipto em solo contaminado por Zn. Para tal, estabeleceu-se um experimento para avaliar o crescimento de mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna*, e *E. dunnii* em solo contaminado por Zn. Em sequência foi conduzido outro experimento para avaliar o efeito dos isolados ectomicorrízicos de *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116), *Pisolithus tinctorius* (UFSC-132) e o isolado UFSC-121 no desenvolvimento das mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*. E por fim, avaliou-se o crescimento de mudas de *C. citriodora* e o efeito da inoculação com *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) em solo contaminado com Zn. *C. citriodora* apresentou maior altura de planta, comprimento da raiz principal, volume radicular, massa seca da aste caulinar, massa seca das folhas, massa seca das raízes e massa seca total que o *E. grandis*, *E. saligna* e *E. dunnii* em solo contaminado com 980 mg kg⁻¹ de Zn. *C. citriodora* foi a espécie com maior crescimento no solo com 79% de argila contaminado pela adição de 980 mg kg⁻¹ de Zn. Enquanto o *E. dunnii* teve desenvolvimento de suas partes vegetativas reduzido significativamente nesta dose. A inoculação do isolado *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) nas espécies de eucalipto proporcionou o maior percentual de raízes colonizadas no *C. citriodora*. O percentual de colonização ectomicorrízica de *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) em *C. citriodora* foi estimulado pelo acréscimo de até 1.412,21mg kg⁻¹ de Zn no solo. A adição de 1.500 mg kg⁻¹ de Zn no solo com 81% de argila não afeta o desenvolvimento do *C. citriodora*.

Palavras-chaves: Contaminação do solo. Simbiose. Tolerância. Metal pesado.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Agronomy: Agriculture and Environment
Federal University of Santa Maria

EUCALYPTUS AND ECTOMYCORRHIZAE FOR PHYTOREMEDIATION OF SOILS CONTAMINATED WITH ZINC

AUTHOR: SIDINEI WOLNEI WEIRICH
ADVISOR: RODRIGO FERREIRA DA SILVA
Frederico Westphalen, RS, February 27th, 2013.

Population growth, human technological development and intensification of human activities on the environment, has generated considerable volumes of industrial, agricultural and urban waste, which when applied to the soil can contaminate it with heavy metals, including zinc (Zn). To be present in high concentrations in the soil this element is phytotoxic to most crops, disabling growing areas, becoming a risk to human health and the environment. Zn contaminated areas need to be recovered. To this end, this study aimed to evaluate the growing of *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* and *E. dunnii*, and the effect of isolated ectomycorrhizal association with the development of eucalyptus on soil contaminated by Zn. To do this, set up an experiment to evaluate the growth of seedlings of *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* and *E. dunnii* in soil contaminated by zinc. In another experiment sequence was conducted to assess the effect of ectomycorrhizal isolates of *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116), *Pisolithus tinctorius* (UFSC-132) and isolated UFSC-121 in seedling development of *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* and *E. dunnii*. Finally, we assessed the development of seedlings of *C. citriodora* and the effect of inoculation with *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) in soil contaminated with Zn. *C. citriodora* has greater plant height, main root length, root volume, dry mass of cauline stem, leaf dry weight, root dry mass and total dry mass than *E. grandis*, *E. saligna* and *E. dunnii* in soil contaminated with 980 mg kg⁻¹ Zn. *C. citriodora*, was the fastest-growing species in the soil with 79% clay contaminated by the addition of 980 mg kg⁻¹ Zn. While *E. dunnii* had development of vegetative parts significantly reduced at this dose. Inoculation of isolated *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) in eucalyptus species yielded the highest percentage of colonized roots in *C. citriodora*. The percentage of ectomycorrhizal colonization of *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) in *C. citriodora* was stimulated by the addition to 1,412.21 mg kg⁻¹ Zn in solo. The addition of 1,500 mg kg⁻¹ Zn in soil with 81% clay does not affect the development of *C. citriodora*.

Keywords: Soil contamination. Symbiosis. Tolerance. Heavy metal.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1 – Características químicas do solo estudado. 36
- Tabela 2 – Altura de planta, diâmetro do colo, comprimento da raiz principal, volume radicular, número de folhas e área foliar de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a adição de doses crescentes de Zn..... 39
- Tabela 3 – Massa seca da aste caulinar, massa seca das raízes, massa seca das folhas e massa seca total de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a adição de doses crescentes de Zn..... 41
- Tabela 4 – Modelos ajustados das equações de regressão, D_{50} e coeficientes de determinação obtidos para a altura de planta, diâmetro do colo, comprimento da raiz principal (CRP), volume radicular, número de folhas, área foliar total, massa seca das folhas, massa seca da aste caulinar (MSAC), massa seca das raízes e massa seca total de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna*, *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a doses crescentes de Zn. 44

CAPÍTULO II

- Tabela 1 – Altura de planta, diâmetro de colo, número de folhas, massa seca das folhas, massa seca radicular, massa seca aérea de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, inoculados com os isolados de fungos ectomicorrízicos, UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 e sem inoculação. 63
- Tabela 2 – Relação massa seca aérea/massa seca radicular, altura/diâmetro e índice de qualidade de Dickson, para *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, inoculados com os isolados de fungos ectomicorrízicos, UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 e sem inoculação. 67

CAPÍTULO III

Tabela 1 – Características químicas do solo estudado.	78
Tabela 2 – Valores de Zn disponível no solo antes e após a coleta do <i>C. citriodora</i> , com, ou sem inoculação ectomicorrízica.....	80
Tabela 3 – Altura de planta, diâmetro do colo, número de folhas, índice de clorofila total, massa seca das folhas, volume radicular, massa seca radicular, massa seca da haste caulinar e massa seca total de <i>C. citriodora</i> , inoculado com o isolado de fungo ectomicorrízico, UFSC - Pt116, e sem inoculação, cultivado em solo contaminado com doses crescentes de Zn.....	82
Tabela 4 – Relação massa seca aérea/massa seca radicular e a relação altura/diâmetro do colo de <i>C. citriodora</i> , inoculado com o isolado de fungo ectomicorrízico, UFSC - Pt116, e sem inoculação, cultivado em solo contaminado com doses crescentes de Zn.....	86

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1 – Linhas de tendência referentes aos modelos ajustados obtidos na análise de regressão das variáveis, altura das plantas, diâmetro do colo, comprimento da raiz principal, volume radicular, número de folhas e área foliar total de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a doses crescentes de Zn (n = 12).43
- Figura 2 – Linhas de tendência referentes aos modelos ajustados obtidos na análise de regressão e os pontos médios das variáveis, massa seca total, massa seca das folhas, massa seca da aste caulinar e massa seca radicular de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a adição de doses crescente de Zn. (n = 12).46

CAPÍTULO II

- Figura 1 – Percentual de colonização ectomicorrízica de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, inoculados com os isolados de fungos ectomicorrízicos, UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 e sem inoculação.61

CAPÍTULO III

- Figura 1 – Clorofila total das folhas de *C. citriodora* inoculado com UFSC - Pt116 (A) e sem inoculação (B), cultivado em solo com teor natural de Zn. 83
- Figura 2 – Equação de regressão e pontos médios referentes ao índice de clorofila total de *C. citriodora* com e sem inoculação com UFSC - Pt116 (A). Equação de regressão do volume radicular e pontos médios de *C. citriodora* com e sem inoculação com UFSC - Pt116 (B). Percentual de colonização ectomicorrízica de *C. citriodora* inoculado com UFSC - Pt116, em função das doses de Zn adicionadas no solo (C).85

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Características e importância do zinco	15
2.2 O solo contaminado com Zn.....	16
2.3 Fitorremediação de solos contaminados por metais pesados	19
2.4 Uso do eucalipto como planta fitorremediadora.....	20
2.5 Uso de ectomicorrizas na fitorremediação	21
2.6 Referências Bibliográficas.....	24
3 CAPÍTULO I	33
CRESCIMENTO DE MUDAS DE EUCALIPTO EM SOLO CONTAMINADO COM ZINCO	33
3.1 Resumo	33
3.2 Introdução.....	33
3.3 Material e Métodos	36
3.4 Resultados e Discussão.....	38
3.5 Conclusões.....	48
3.6 Referências Bibliográficas.....	48
4 CAPÍTULO II.....	56
INFLUÊNCIA DA ASSOCIAÇÃO ECTOMICORRÍZICA NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>E. grandis</i>, <i>C. citriodora</i>, <i>E. saligna</i> e <i>E. dunnii</i>.....	56
4.1 Resumo	56
4.2 Introdução.....	56
4.3 Material e Métodos	58
4.4 Resultados e Discussão.....	61
4.5 Conclusões.....	69
4.6 Referências Bibliográficas.....	69
5 CAPÍTULO III	75
CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Corymbia citriodora</i> INOCULADO COM <i>Pisolithus microcarpus</i> EM SOLO CONTAMINADO COM ZINCO	75
5.1 Resumo	75
5.2 Introdução.....	75
5.3 Material e Métodos	77
5.4 Resultados e Discussão.....	81
5.5 Conclusões.....	86
5.6 Referências Bibliográficas.....	87
6 DISCUSSÃO	93
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

1 INTRODUÇÃO

Solos são constantemente contaminados com metais pesados pelo uso antrópico. Os teores de zinco (Zn) no solo têm se elevado, em função das atividades agrícolas, industriais, extrativismo de minério, ou devido à elevada geração de lixo e esgoto pela população. Altas concentrações de metais pesados no solo podem inferir toxicidade às culturas agrícolas, riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Fenômenos como o de lixiviação e escoamento superficial de água podem ainda contaminar solos adjacentes e água superficial e sub-superficial. Entre as principais fontes de contaminação por Zn tem-se a aplicação de resíduos orgânicos ao solo, como por exemplo, dejetos líquidos de suínos, a emissão de partículas pela atividade industrial à atmosfera, com posterior deposição na superfície dos solos, o descarte de resíduos de mineração, industriais, eletroeletrônicos e lodos de esgotos. Desse modo, é necessário o estudo de alternativas para descontaminação dessas áreas, ou que possibilitem reintroduzi-las novamente no processo produtivo, evitando o deslocamento do Zn para áreas adjacentes, e/ou para água potável.

Nesse sentido, a fitorremediação é uma técnica de biorremediação, que compreende o uso de plantas e os microorganismos a elas associadas para remoção ou estabilização de metais pesados e outros contaminantes dos solos. A fitoextração de metais pesados do solo é realizada principalmente com plantas de ciclo rápido, ou hiperacumuladoras de metal na parte aérea, para a remoção da matéria seca das plantas contendo o metal pesado do local. A fitoestabilização utiliza as plantas para servirem de cobertura vegetal do solo, acrescentando material orgânico, possibilitando o desenvolvimento da microbiota do solo, evitando a mobilização do contaminante do local e precipitando o metal em formas insolúveis no solo e na planta.

O crescente uso da fitorremediação se deve principalmente ao baixo custo financeiro e pela possibilidade de retorno da área contaminada ao processo produtivo. O uso de plantas arbóreas capazes de se desenvolver em áreas com elevadas concentrações de metais tem sido considerado na fitorremediação devido ao seu crescimento vigoroso e capacidade de se desenvolver em locais considerados impróprios para outras plantas, além de produzirem volumes consideráveis de biomassa, onde os metais permanecem imobilizados por mais tempo. Dependendo da espécie as árvores ao se desenvolverem em solo contaminado acumulam os metais pesados em seu sistema radicular, em sua parte aérea ou apenas não

absorvem metal em excesso. O desenvolvimento das árvores possibilitam ainda benefícios para estabilização do local contaminado, por meio da ação do seu sistema radicular em profundidade, melhorando a estrutura do solo e protegendo a sua superfície, reduzindo o impacto das gotas de chuva e conseqüentemente os processos erosivos. Além disso, a queda de folhas gera serapilheira tornando-se fonte de alimento para a biota do solo, favorecendo a ciclagem de nutrientes e melhorando os níveis de matéria orgânica do solo.

Algumas espécies arbóreas associam-se simbioticamente com fungos do solo, formando ectomicorrizas, que promovem trocas mutualistas entre as hifas dos fungos e as raízes das plantas. As hifas desse grupo de fungos não penetram nas células, porém ocupam a lamela média entre as células das raízes para realizar a troca de água e minerais absorvidos do solo por fotoassimilados produzidos pelas plantas. As hifas exploram um volume de solo superior ao alcançado pelas raízes e excretam enzimas e ácidos que solubilizam nutrientes e possibilitam sua absorção. Além disso, as hifas circundam as raízes secundárias e formam um manto fúngico, que apresenta capacidade protetora. No caso de altas concentrações de metais pesados no solo, as hifas podem imobilizar o metal externamente, ou no interior da própria hifa, evitando que concentrações tóxicas cheguem até as raízes das plantas. A associação ectomicorrízica pode possibilitar a sobrevivência do hospedeiro em solos sob condições adversas, como por exemplo, solos de baixa fertilidade ou contaminados com metais pesados. Entretanto, existe certa especificidade entre espécies arbóreas e os isolados fúngicos com diferentes respostas em função do ambiente de cultivo. Assim, é importante a seleção de isolados que apresentem associação ectomicorrízica favorável em cada condição ambiental específica.

O uso de espécies arbóreas que apresentam rápido crescimento e possibilidade de uso da madeira, como por exemplo o eucalipto, torna-se uma alternativa atrativa para uso em solos contaminados. Contudo, é necessário identificar quais espécies de eucalipto toleram altas concentrações de Zn no solo e que se associem com fungos ectomicorrízicos, possibilitando o estabelecimento e crescimento em condições adversas. Desse modo, a seleção de espécies de eucalipto que formem ectomicorrizas e que consigam se desenvolver em solo com altas concentrações de Zn torna-se necessária para uso em solos contaminados.

O uso de espécies que toleram altos teores de metais no solo, de rápido crescimento e com valor econômico são uma alternativa para revegetação de áreas contaminadas por Zn. Nesse sentido, elaboraram-se as seguintes hipóteses para esse trabalho: Espécies de eucalipto respondem distintamente a contaminação do solo por Zn; o crescimento do eucalipto é influenciado pela associação micorrízica; a ectomicorriza contribui para o crescimento das

mudas de eucalipto em solo contaminado com Zn. Este trabalho teve o objetivo de avaliar o crescimento de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maid., *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson, *Eucalyptus saligna* Sm. e *Eucalyptus dunnii* Maiden., e o efeito da associação com isolados ectomicorrízicos no crescimento de eucalipto em solo contaminado por Zn.

Para atender às hipóteses e os objetivos propostos pelo estudo, o trabalho foi dividido em três experimentos. O primeiro experimento foi conduzido para avaliar a tolerância das mudas das espécies de eucalipto (*E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*) ao solo contaminado com Zn. O segundo experimento foi conduzido para avaliar o efeito de isolados ectomicorrízicos no crescimento de mudas das espécies de eucalipto (*E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*). Na sequência o terceiro experimento foi conduzido para avaliar o crescimento *C. citriodora* micorrizado com o *Pisolithus microcarpus* em solo contaminado com Zn.

2 REVISÃO DE BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características e importância do zinco

O zinco (Zn) é o 23º elemento em abundância na Terra (BROADLEY et al., 2007), com número atômico 30, sendo um metal de transição com densidade de $7,13 \text{ g cm}^{-3}$. O teor médio de Zn no solo é estimado em 70 mg kg^{-1} (KABATA-PENDIAS, 2010), podendo chegar à 300 mg kg^{-1} (NOVAIS et al., 2007), ocorre em três frações principais, solúvel em água, associado com as partículas de argila, compostos húmicos, alumínio e hidróxidos de ferro, e insolúvel formando complexos com minerais. Esta distribuição entre as frações é determinada principalmente pela capacidade de complexação, precipitação e reações de adsorção do solo (BROADLEY et al., 2007).

O Zn é considerado um dos metais pesados de maior mobilidade no solo (HOODA, 2010; KABATA-PENDIAS, 2010), e sua disponibilidade na solução do solo é maior quando o solo apresentar pH ácido (SANTOS et al., 2002; BHATTACHARYA et al., 2006; EPA, 2007; NOVAIS et al., 2007; HOODA, 2010). É facilmente precipitado por reação com carbonatos, ou adsorvido por minerais e compostos orgânicos, especialmente na presença de ânions de enxofre (RESENDE, 2005; KABATA-PENDIAS, 2010). A remoção completa do Zn dos solos contaminados é demorada, estima-se 40 anos em clima tropical há 3.000 anos em solos de clima temperado (LEYVAL et al., 1997; KABATA-PENDIAS, 2010; BASSO et al., 2012).

O Zn é um elemento essencial para o crescimento das plantas (CHANG e PAGE, 2000; HOODA, 2010), estando presente nas seis classes de enzimas, com função estrutural ou como catalisador e co-catalisador (AULD, 2001; MARET, 2005; BROADLEY et al., 2007). Fisiologicamente tem efeito direto no metabolismo de carboidratos, proteínas e auxina, sendo importante para manter a integridade da membrana celular e a reprodução das plantas (BROWN et al., 1993). Contudo, é utilizado em quantidades muito pequenas pelas plantas (EL-GHAMERY et al., 2003), sendo classificado como micronutriente.

A matéria seca das plantas normalmente contém até 150 mg kg^{-1} de Zn (RESENDE, 2005), tornando-se geralmente fitotóxico para a maioria das plantas em teores acima de 400 mg kg^{-1} na matéria seca (CHANG e PAGE, 2000; ALKORTA et al., 2004; EPA, 2007). A exceção na concentração fitotóxica é para plantas hiperacumuladoras de Zn, como o *Thlaspi*

caerulescens, que apresentou em sua biomassa seca 1,7% de Zn (TAIZ e ZEIGER, 2010). O Zn é absorvido pelas plantas através de uma via simplástica, passando pelas células epidérmicas e corticais da raiz, seguindo pelo xilema, alcançando o citoplasma celular canalizado através da membrana plasmática e pela atividade de transporte no tonoplasto (LASAT e KOCHIAN, 2000), ou pelo apoplasto até as estrias de Caspary (WHITE, 2001; WHITE et al., 2002). O padrão de mobilidade do Zn dentro de uma árvore é de fácil translocação para os tecidos aéreos (PULFORD e WATSON, 2003). Assim, este metal em altas concentrações diminuiu o crescimento das plantas (CAILLE et al., 2004).

A fitotoxicidade causada pelo Zn pode ser resultante da contaminação do solo. Em solos ácidos, o Zn geralmente reduz o comprimento das raízes das plantas e induz a clorose uniforme das folhas devido à deficiência de ferro, que é impedido pelo Zn de ser reduzido e transportado para o interior das plantas. Além disso, a toxicidade direta aos processos fisiológicos nas folhas também limita o crescimento das plantas (HOODA, 2010). Nesse caso, induz o aparecimento de pigmentação vermelha no pecíolo e nas nervuras das folhas (NOVAIS et al., 2007), tornando as folhas cloróticas e necróticas nas pontas, sendo a clorose mais evidente em folhas novas, somado ao crescimento retardado da planta inteira e raízes com danos físicos (KABATA-PENDIAS, 2010).

2.2 O solo contaminado com Zn

No Brasil foram cadastradas mais de 543 áreas contaminadas com metais pesados (CETESB, 2011). Além disso, 10% dos municípios brasileiros apontaram ter áreas contaminadas com Cu, Pb e Zn (IBGE, 2005). O acréscimo no teor de Zn no solo está relacionado às atividades antropogênicas, que apresentam grande potencial poluente (HOODA, 2010). O Zn se acumula no solo por meio da irrigação com água contaminada, aplicação de fertilizantes e da eliminação de resíduos industriais, urbanos, orgânicos e de mineração (CHANG e PAGE, 2000; CHANEY et al., 2004; DACH e STARMANS, 2005; STREET et al., 2007; STUCZYNSKI et al., 2007; HOODA, 2010; KABATA-PENDIAS, 2010; LI et al., 2012). Aliando-se ao fato de que as práticas de cultivo podem conduzir ao aumento nas quantidades de Zn em solos de lavouras (CHANG e PAGE, 2000; MORAES e HORN, 2010).

Nesse sentido, é previsto aumento na contaminação dos solos por metais pesados nos próximos 30 a 40 anos (McGRATH et al., 2002), representando um estresse ambiental que irá limitar o uso da terra (ZHELJAZKOVA et al., 2008). Esta estimativa tem relação com o

crescimento populacional e a constante urbanização (OECD/FAO, 2012). Em 2010, as áreas urbanas abrigavam 3,5 bilhões de pessoas, ou seja, 50,5% da população do mundo (UN, 2011). Sendo esperado para 2050 um aumento de 67% da população urbana mundial, chegando a 6,3 bilhões de pessoas vivendo nas cidades, e resultando em uma urbanização contínua (UN, 2012) que produz resíduos ininterruptamente. O volume de rejeitos e resíduos gerados constantemente nas cidades, somam mundialmente 2 bilhões de toneladas de resíduos de processos industriais por ano (CHALMIN e GAILLOCHET, 2009), e de 1,6 a 2,0 bilhões de toneladas de lixo. Desse montante, 70% são levados para lixões e aterros sanitários, sendo constituído cada vez mais de resíduos de equipamentos eletrônicos (ISWA, 2012), os quais contém metais pesados como o Zn (GRAMATYKA et al., 2007; LINCOLN et al., 2007) que, ao vazarem dos aterros, podem contaminar o solo adjacente.

As Nações Unidas estimam que a população mundial chegue a 9,1 bilhões em 2050, mantendo crescente a demanda por alimentos, ração, combustível, fibras e produtos manufaturados, o que contribuiu para adicionar no ambiente metais potencialmente tóxicos (RIBEIRO FILHO et al., 1999). Nas últimas cinco décadas, o lançamento mundial de Zn no meio ambiente foi de 1,35 milhões de toneladas (SINGH et al., 2003). A poluição crescente torna áreas de cultivo em não produtivas e perigosas, tanto para a vida selvagem quanto para a população humana (GARBUSU e ALKORTA, 2001). O Zn está presente nos esgotos (LUXRESEARCH, 2009), lodo de esgoto e biossólidos produzidos pela população (STUCZYNSKI et al., 2007; HABITAT, 2008; KABATA-PENDIAS, 2010). Os biossólidos geralmente contém Zn com teores entre 500 e 1.500 mg kg⁻¹ (HOODA, 2010). Por exemplo, nos solos Sul-Africanos são descartadas anualmente cerca de 150.000 a 250.000 toneladas de lodo de esgoto seco, grande parte em terras agrícolas (STREET et al., 2007).

Na indústria o Zn é amplamente usado como um agente anticorrosivo. O uso mais comum é na galvanização de ferro e aço (SWEDISH EPA, 2011). Além disso, é um importante componente de várias ligas metálicas e amplamente utilizado como catalisador na produção de diferentes produtos químicos, tais como: borracha, plásticos, pigmentos, lubrificantes e pesticidas. Também é utilizado em baterias de equipamentos e automóveis, tubulações e dispositivos domésticos (KABATA-PENDIAS, 2010). Entretanto, os processos de fabricação ou a fundição desses materiais acabam emitindo o metal para a atmosfera, e posteriormente retorna ao solo pela chuva (HOODA, 2010).

O Zn é adicionado à ração para animais confinados via suplementos minerais, especialmente para suínos, geralmente excedendo a capacidade fisiológica absorptiva dos animais e, assim, conseqüentemente permanecem altos teores do metal nas fezes

(JONDREVILLE et al., 2003). A crescente produção de suínos (FIESP/ICONE, 2012) tem gerado elevada produção de dejetos, que são utilizados como fontes de nutrientes nos cultivos agrícolas. Esse dejetos, ao ser aplicado em grandes volumes no solo, aumenta as concentrações de Zn no solo (CHANG e PAGE, 2000; GIROTTO, 2007; HOODA, 2010). Além disso, o Zn está presente principalmente no fósforo das fórmulas NPK, tornando-se uma forma de incremento de Zn nos solos cultivados (KABATA-PENDIAS, 2010).

A extração de minério de Zn, bem como os resíduos das minas de extração, são apontados como locais de contaminação ambiental (HOODA, 2010). Relato de Caille et al. (2004) sobre área de mineração já explorada e atividades de fundição em Cornwall no sudoeste da Inglaterra, apontam que seis solos avaliados apresentaram concentração total de Zn entre 158 a 1.242 mg kg⁻¹ de solo na camada de 0 - 20 cm. Na África do Sul, a atividade de mineração e deposição de resíduos processados ou não, resultou na lixiviação persistente de metais dissolvidos na água e no solo (STREET et al., 2007). Outra área com elevados teores de Zn no solo se situa na região de Vazante – MG, onde os teores de Zn em perfis do solo adjacente à área de mineração do metal são de até 129.768 mg kg⁻¹ de Zn, em formas pouco lábeis, associado a óxidos amorfos, carbonatos e óxidos cristalinos devido ao pH do solo acima de 6 no resíduo de descarte (BORGES Jr. et al., 2008). No Município de Lavras do Sul - RS, em solos próximos aos locais de beneficiamento de ouro, os níveis de intervenção agrícola foram atingidos para As, Cu, Hg, Pb e Zn, sendo que as anomalias de Zn foram frequentes e favorecidas pelo pH do solo local (GRAZIA e PESTANA, 2008).

A mineração de carvão também gera riscos de contaminação do solo, durante os procedimentos de lavra, beneficiamento, disposição de solos e rejeitos que contenham pirita (FeS₂) gerando drenagem ácida, quando exposta a água e ar, dissolvendo os aluminossilicatos, e aumentando a solubilidade do Zn presente nos rejeitos (MACHADO et al., 2009). Os rejeitos de mineração de carvão de Candiota – RS, contêm elevados teores de Zn e são fontes deste para solução do solo (SOARES et al., 1997).

O Zn no solo está na forma iônica livre Zn²⁺ quando o pH está abaixo de 7,7. Está presente também em complexos orgânicos na solução do solo, adsorvido ou trocável na fração coloidal do solo, em compostos de argilas, compostos húmicos, em hidróxidos de Fe e Al ou formando minerais secundários e complexos insolúveis na fase sólida do solo. Na solução do solo o Zn ocorre em forma de íon livre ou complexado, como cátion; Zn²⁺, ZnCl⁺, ZnOH⁺, ZnHCO₃⁺ e como ânion; ZnO₂²⁻, Zn(OH)₃⁻, ZnCl₃⁻, além de Zn-orgânico (KABATA-PENDIAS, 2010).

Quando as concentrações de Zn no solo atingem teores prejudiciais, estando acima do recomendado pelos órgãos ambientais, passa a ser necessária a recuperação das áreas. Para solos contaminados com Zn, a Cetesb (2005) tem como valor de referência para intervenção o limite superior de 450 mg kg⁻¹ de peso seco em áreas agrícolas, 1.000 mg kg⁻¹ de peso seco em áreas residenciais e acima de 2.000 mg kg⁻¹ de peso seco para áreas industriais.

2.3 Fitorremediação de solos contaminados por metais pesados

A fitorremediação é um termo relativamente novo, criado em 1991, e tem como base, o uso de plantas e seus microrganismos associados para remover ou estabilizar metais do solo por meio dos mecanismos de tolerância das plantas e dos microrganismos (RASKIN e ENSLEY, 2000; SCHWITZGUÉBEL, 2000; UNEP, 2002). É uma técnica aplicada para extração, concentração, degradação, volatilização de contaminantes em solos ou águas subterrâneas, ou para imobilização de compostos tóxicos na rizosfera, controle hidráulico de águas subterrâneas contaminadas, da erosão e infiltração por meio da cobertura vegetal (EPA, 2000). Desse modo, essa técnica é promissora por possibilitar a manutenção do solo no local, após a remoção dos contaminantes, podendo ser utilizada em grandes áreas de solos moderadamente contaminados (KALIŠOVÁ-ŠPIROCHOVÁ et al., 2003). É considerada uma técnica de descontaminação de solos de baixo custo quando comparada aos métodos tradicionais (DICKINSON, 2000; USEPA, 2000; SINGH et al., 2003; ALKORTA et al., 2004).

Esta técnica pode ser utilizada para a remoção ou estabilização de solo contaminado com Zn (ITRC, 1997; EPA, 2000; UNEP, 2002; ALKORTA et al., 2004). Dependendo do tipo de planta utilizada, pode ser direcionada para a absorção dos metais pelas raízes e seu acúmulo nos tecidos vegetais, ou o uso de uma cobertura vegetal para servir de barreira natural contra a erosão do solo e a lixiviação do metal (UNEP, 2002), evitando a poluição difusa do meio ambiente adjacente (ITRC, 2009). As plantas toleram altas concentrações de metais pesados por meio de processos bioquímicos relacionados ao sequestro dos íons metálicos nos vacúolos, fixados a ligantes, como os ácidos orgânicos, proteínas, peptídeos e enzimas que podem funcionar mesmo em altos teores de metais (GARBISU e ALKORTA, 2001).

A maioria das plantas fitorremediadoras conhecidas são de clima temperado e pertencentes à família Brassicaceae (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). Recentemente, vem sendo dada atenção ao uso de árvores, que apresentam eficiência no tratamento de solos

contaminados em profundidade, devido ao sistema radicular (UNEP, 2002; ITRC, 2009). As árvores apresentam possibilidade de atender os requisitos para se tornar uma planta fitorremediadora, tais como: alta produção de fitomassa, possível tolerância às concentrações do metal, rápida taxa de crescimento e valor econômico (PUNSHON et al., 1996). Especialmente as espécies lenhosas de ciclo rápido. Destinadas à produção de celulose, combustível ou madeira (EPA, 2000). A característica das árvores que as tornam adequadas para fitorremediação é a sua biomassa, acima e abaixo do solo. Além disso, a cobertura vegetal atua também como barreira natural à migração do metal, no favorecimento à microbiota do solo (UNEP, 2002; GARCÍA et al., 2004; WHITING et al., 2004), no acréscimo da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e agregação do solo (PULFORD e WATSON, 2003).

As raízes geram uma estabilização direta do solo em profundidade (UNEP, 2002; ITRC, 2009). E removem a água subterrânea contaminada pela transpiração reduzindo a lixiviação (GARTEN, 1999; KALIŠOVÁ-ŠPIROCHOVÁ et al., 2003; PULFORD e WATSON, 2003) evitando a poluição difusa do meio ambiente adjacente (ITRC, 2009). A madeira pode imobilizar metais por longos períodos se não for utilizada para combustão (LEPP, 1996) e embora seja o local de menor acúmulo de Zn nas árvores, quando comparado com folhas e casca, seu percentual de fitomassa é significativamente superior as demais partes, compensando a menor concentração (PULFORD e WATSON, 2003).

2.4 Uso do eucalipto como planta fitorremediadora

O eucalipto é uma planta do gênero das Mirtáceas, nativo da Oceania e cultivado em diversos países (HASSE, 2006). Em torno de 90 países usam esta cultura em plantios comerciais, destacando-se o Brasil, Índia, África do Sul, China, Itália, Israel, Argentina, Chile e países Árabes (MOURA e GUIMARÃES, 2003). No Brasil, há evidências de que as primeiras árvores foram plantadas no ano de 1825, com a finalidade de ornamentação e quebra-vento (PEREIRA et al., 2000). O cultivo comercial iniciou em 1904, para atender à Companhia Paulista de Estradas de Ferro (ANDRADE, 1961). O Brasil tem a maior área plantada de eucalipto do mundo, sendo a cultura arbórea exótica mais utilizada para reflorestamento (PAVAN et al., 2010), cultivado em 75% das áreas de florestas plantadas do país, totalizando 4,87 milhões de hectares (ABRAF, 2012).

É uma planta que produz grande volume de fitomassa (SCHUMACHER e CALDEIRA, 2001; FREITAS et al., 2004; ALVEZ et al., 2007; VITAL, 2007). Nesse

sentido, existe uma estreita relação entre produção de biomassa e conteúdo de nutrientes acumulados nas árvores (SANTANA et al., 1999). Desse modo, verificou-se que o *E. grandis* em solo de acidez média e baixa fertilidade, acumulou 99,4% do Zn até os seus 5 anos de idade (BELLOTE et al., 1980).

O eucalipto já foi utilizado para fitoextração de céσιο e estrôncio (ENTRY e EMMINGHAM, 1995; ITRC, 2009). Devido a sua capacidade de transpiração de 200 a 800 litros árvore⁻¹ dia⁻¹, foi utilizado no controle hidráulico de cádmio, cobre e sódio, bem como, para a fitoestabilização e rizodegradação de níquel e mercúrio (EPA, 2005). Algumas espécies apresentam capacidade de crescer em solo contaminado com Zn e outros metais pesados, dentre elas, o *E. grandis*, *C. citriodora* e principalmente o *E. torelliana* e o *C. camaldulensis* (SOARES et al., 2002). Magalhães et al. (2011), ao avaliar o potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com Zn, observaram que o *E. urophylla*, acumula Zn principalmente no caule, e o *E. saligna* mantém maior parte do Zn retido nas raízes. *C. citriodora* é considerada uma espécie tolerante a metais pesados por Salt et al. (1998).

Em seus estudos Soares et al. (2001) observaram que *C. maculata* é mais tolerante a toxicidade do Zn que *E. urophylla*, onde o nível crítico de toxicidade de Zn na parte aérea do *C. maculata* foi de 853 mg kg⁻¹, valor bem acima dos 400 mg kg⁻¹ de Zn considerados como tóxicos para a maioria das espécies (KABATA-PENDIAS, 2010). Sabe-se que em *E. grandis* o Zn é o segundo micronutriente mais exportado pela colheita, 258,92 mg de Zn por caule aos 7 anos de idade (BELLOTE et al., 1980). Desse modo, o eucalipto aparenta ser promissor para fitorremediação de solos contaminados por Zn.

2.5 Uso de ectomicorrizas na fitorremediação

Os fungos ectomicorrízicos pertencem na sua maioria a divisão Basidiomycota, e os demais as divisões Ascomycota, Zigomycota e Deuteromycota. Micorriza refere-se à associação simbiótica mutualística entre raízes de plantas e fungos. O termo micorriza foi proposto pelo botânico Albert Bernard Frank, em 1885, originado do grego, em que *mykes* significa fungo e *rhiza* raiz (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Um dos grupos de micorrizas são as ectomicorrizas, nas quais as hifas dos fungos formam uma espessa bainha ao redor da superfície externa da raiz denominado manto, além de se desenvolver entre as células do córtex da raiz, formando a rede de Hartig, a qual circunda as células corticais (SOUZA et al., 2006), aumentando a interface de contato entre os simbiossios. Esta estrutura constitui o sítio

onde acontecem as trocas de metabólitos entre a planta hospedeira e o fungo (COSTA et al., 2003).

As raízes micorrizadas exploram maior volume de solo que as não micorrizadas, aumentando a área de superfície para absorção de nutrientes. O efeito dos fungos micorrízicos repercute no aumento da absorção de fósforo, na ciclagem de micronutrientes entre o solo e as raízes (KABATA-PENDIAS, 2010) e no fornecimento para plantas de diferentes formas de N (STREET et al., 2007). Os fungos micorrízicos produzem ainda substâncias que promovem o crescimento de plantas, induzindo alterações morfológicas nas raízes e estimulando a formação da micorriza (MADIGAN et al., 2004). Como benefícios indiretos as ectomicorrizas proporcionam maior tolerância a diversos estresses bióticos ou abióticos em que as plantas são submetidas (BRUNDRETT, 2009) e na ausência da aplicação de fertilizantes as plantas tornam-se mais dependentes da simbiose com fungos ectomicorrízicos (SOUSA et al., 2012).

Embora se conheça aproximadamente 5.000 espécies de fungos que formam ectomicorrizas, geralmente essa associação ocorre com algum grau de especificidade (RAVEN et al., 2007). Além disso, a presença das hifas nas raízes altera a interface solo-planta, formando uma barreira físico-química, que protege as plantas da presença de metais pesados e outros poluentes tóxicos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Desse modo, há a necessidade de selecionar espécies de plantas e fungos ectomicorrízicos que estabeleçam a simbiose e que sejam tolerantes a solo contaminado por metais.

As ectomicorrizas possuem diferentes mecanismos de destoxificação de metais pesados. Um dos mecanismos é a compartimentalização extracelular por agentes quelantes da parede celular, ou precipitação dos metais em compostos orgânicos como citrato e oxalato. No interior das células, enzimas transportadoras se ligam ao metal e o transportam para compartimentos intracelulares especializados, onde podem estar agindo sistemas de desintoxicação antioxidante (BELLION et al., 2006), ou quelantes específicos como as fitoquelatinas e metalotioneínas (COURBOT et al., 2004). As paredes das células das hifas fúngicas têm elevadas capacidades de ligação com metal por meio da biossorção. Assim, os fungos podem ligar quantidades substanciais de metais (BLAUDEZ et al., 2000).

A simbiose ectomicorrízica favorece a absorção, translocação e maior captação de nutrientes e água (SILVA et al., 2003; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; AGARWAL e SAH, 2009) em função do aumento significativo na área de absorção no solo (STEFFEN et al., 2010). Em solos com excesso de metais pesados, os fungos ectomicorrízicos em simbiose com as plantas podem aumentar a absorção de nutrientes pelas raízes e imobilizar os metais pesados, pelos mecanismos destoxicantes de suas hifas (GRAZZIOTTI et al., 2003;

MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; CABRAL et al., 2010) reduzindo a translocação destes para a parte aérea e conferindo maior tolerância das plantas a estes elementos (STEFFEN et al., 2010). Externamente às hifas, os metais são imobilizados e quelados pela ligação a polímeros da parede celular e internamente nas células dos fungos os metais são complexados por peptídeos (GÖHRE e PASZKOWSKI, 2006), antioxidados, compartimentalizados, ou ligados a grânulos de polifosfatos (BELLION et al., 2006). Assim, a simbiose ectomicorrízica possibilita o estabelecimento florestal em solos pobres ou contaminados (SILVA et al., 2003; ANDREAZZA et al., 2004; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; SMITH e READ, 2008).

As ectomicorrizas podem reduzir a toxicidade de metais em plantas, mas para isto é necessário que o isolado do fungo sobreviva no substrato tóxico, transfira nutrientes para o hospedeiro e reduza a transferência do metal tóxico para o hospedeiro (COLPAERT, 2008). Árvores não tolerantes a metais pesados podem ser beneficiadas pelas hifas de micorrizas, pois estas sequestram os íons metálicos, aumentando a resistência da planta ao metal (PULFORD e WATSON, 2003).

Ao avaliar a rizosfera de *Pinus sylvestris*, Mleczko (2004) encontrou fungos ectomicorrízicos em área de resíduos de indústria de Zn no sul da Polônia. Soares et al. (2002) relataram que em algumas espécies como *Eucalyptus urophylla* a colonização ectomicorrízica aumentou em solo pouco contaminado com metal e reduziu nas contaminações mais elevadas. Adriaensen et al. (2003) afirmaram que simbiontes de raízes são um importante componente da estratégia de sobrevivência das árvores que colonizam solos contaminados. Estes autores observaram, ainda, que a combinação de *Pinus* com o isolado de *Suillus bovinus* é eficiente para a fitoestabilização de solos contaminados pela mineração e fundição Zn. Shetty et al. (1995) observaram efeitos benéficos da simbiose micorrízica com *Andropogon gerardii* Vitm em solo contaminado Zn, e que isolados adaptados a altos teores de Zn foram mais eficazes no aumento da biomassa de plantas em níveis mais elevados de Zn no solo.

A inoculação de fungos ectomicorrízicos, visando à produção de mudas vigorosas e resistentes às condições de estresse de campo, é uma das principais aplicações biotecnológicas das ectomicorrizas (COSTA et al., 2003). A inoculação das mudas ainda no viveiro é uma forma controlada de levar o fungo a campo, contribuindo para o estabelecimento e desenvolvimento das plantas na área de plantio (ANDREAZZA et al., 2004; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Além disso, antecipa a simbiose entre fungo e planta, gerando mudas de maior qualidade (PERA e PARLADÉ, 2005). Nesse caso, é possível que as ectomicorrizas contribuam significativamente para a tolerância de espécies arbóreas, como o eucalipto, a solo contaminado por Zn.

2.6 Referências Bibliográficas

- ABRAF - Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário estatístico da ABRAF 2012, ano base 2011**. Brasília, DF, 2012. 150 p.
- ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O.; CURI, N.; MOREIRA, F. M. S. Amenização do calcário na toxidez de zinco e cádmio para mudas de *Eucalyptus camaldulensis* cultivadas em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 775-783, 2004.
- ANDRADE, E.N. **O eucalipto**. 2ª Edição. Impresso nas oficinas tipográficas da Companhia Paulista de estradas de Ferro, 667p. SãoPaulo, 1961.
- ANDREAZZA, R.; ANTONIOLLI, Z. I.; SILVA, R. F.; LONGHI, S. J. Espécies de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 14, p. 51-59, 2004.
- ADRIAENSEN, K. LELIE, D.; LAERE, A. V.; VANGRONSVELD, J.; COLPAERT, J. V. A zinc-adapted fungus protects pines from zinc stress. **New Phytologist**, v. 161, p. 549-555, 2003.
- AGARWAL, P.; SAH, P. Ecological Importance of Ectomycorrhizae in World Forest Ecosystems. **Nature and Science**, 7(2), 2009.
- ALKORTA, I.; HERNANDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J. M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3, p. 71-90, 2004.
- ALVES, A. M. C.; SILVA, J. A. A.; FERREIRA, R. L. C.; BARRETO, L. P. Quantificação da produção de biomassa em clones de eucaliptos com 4,5 anos, no polo gesso do Araripe-PE. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 48, p.161-173, 2007.
- AULD, D.S. Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites. **BioMetals** 14, p. 271-313. 2001.
- BASSO, C. J.; CERETTA, C. A.; FLORES, E. M. M.; GIROTTO, E. Teores totais de metais pesados no solo após aplicação de dejetos líquidos de suínos. **Ciência Rural**, v.42, p. 653-659, 2012.
- BELLION, M; COURBOT, M.; JACOB, C.; BLAUDEZ, D.; CHALOT, M. Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 254, p. 173-181, 2006.
- BELLOTE, A. F. J.; SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P.; OLIVEIRA, G. D. Extração e exportação de nutriente pelo *Eucalyptus grandis* Hill ex-Maiden em função da idade: 2 - Micronutrientes. **IPEF** n.20, p.27-45, jun.1980.

BHATTACHARYA, A.; ROUTH, J.; JACKS, G.; BHATTACHARYA, P.; MORTH, M. Environmental assessment of abandoned mine tailings in Adak, Vasterbotten district (northern Sweden). **Applied Geochemistry**, v. 21, p. 1760-1780, 2006.

BLAUDEZ, D.; BOTTON, B.; CHALOT, M. Cadmium uptake and subcellular compartmentation in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. **Microbiology**, v. 146, p. 1109-1117, 2000.

BORGES JR, M.; MELLO, J. W. V.; SCHAEFER, C. E.G. R.; DUSSIN, T. M.; ABRAHÃO, W. A. P. Valores de referência local e avaliação da contaminação por Zn em solos adjacentes a áreas mineradas no município de Vazante-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2883-2893, 2008.

BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J.; HAMMOND, J. P.; ZELKO, I.; LUX, A. Zinc in plants. Tansley review. **New Phytologist**, v. 173, p. 677-702, 2007.

BROWN, P. H.; CAKMAK, I.; ZHANG, Q. Form and function of zinc in plants. In ROBSON, A.D. (ed), Zinc in Soils and Plants. **Kluwer Academic Publishers**, Dortrecht, p. 90 – 106. 1993.

BRUNDRETT, M. Mycorrhizas in Natural Ecosystems. In: BEGON, M; FITTER, A. H.; MACFADYEN, A. **Advances in Ecological Research**, Vol 21 pp 171-313. 2009.

CABRAL, L.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; PINTO, J. E. B. P. Retenção de metais pesados em micélio de fungos micorrízicos arbusculares. **Química Nova**, v. 33, p. 25-29, 2010.

CAILLE, N.; SWANWICK, S.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* from arsenic contaminated soils and the effect of liming and phosphate fertilization. **Environmental Pollution**, v. 132, p. 113-120, 2004.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo**. Diretoria de controle e licenciamento ambiental. 2005. (Decisão de diretoria Nº 195-2005- E, de 23 de novembro de 2005).

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no estado de São Paulo**. Diretoria de controle e licenciamento ambiental. Dez 2011, 11 p.

CHALMIN, P.; GAILLOCHET, C. **From waste to resource: an abstract of world waste survey 2009, Paris, Veolia, Cyclope, 2009**. Disponível em: <http://www.uncrd.or.jp/env/spc/docs/plenary3/PS3-F-Veolia_Hierso-Print%20abstract.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

CHANEY, R. L.; REEVES, P. G.; RYAN, J. A.; SIMMONS, R. W.; WELCH, R. M.; ANGLE, J. S. An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods to remediate soil Cd risks. **BioMetals**, v. 17, p. 549-553, 2004.

CHANG, A. C.; PAGE, A. L. Trace elements slowly accumulating, depleting in soils. **California Agriculture**, v. 54, p. 49-55, 2000.

COLPAERT, J. V. Heavy metal pollution and genetic adaptations in ectomycorrhizal fungi. In: AVERY, S. V.; STRATFORD, M.; vanWEST, P. (Eds) **Stress in Yeasts and Filamentous Fungi**. Ed. 1. London: Elsevier, Academic Press, p.157-173, 2008.

COSTA, M. D.; PEREIRA, O. L.; KASUYA, M. C. M.; BORGES, A. C. Ectomicorrizas: A Face Oculta das Florestas. **Biociência** - n° 29: p. 39-46, 2003.

COURBOT, M.; DIEZ, L.; RUOTOLO, R.; CHALOT, M.; LEROY, P. Cadmium-responsive thiols in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 7413-7417, 2004.

DACH, J.; STARMANS, D. Heavy metals balance in Polish and Dutch agronomy: Actual state and previsions for the future. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.107, p. 309-316, 2005.

DICKINSON N. M. Strategies for sustainable woodland on contaminated soils. **Chemosphere**, 41, p. 259 – 263. 2000.

EL-GHAMERY, A. A.; EL-KHOLY, M. A.; ABOU EL-YOUSER, M. A. Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. **Mutation Research**, v. 537, p. 29-41, 2003.

ENTRY, J. A.; EMMINGHAM, W. H. Sequestration of Cs¹³⁷ and Sr⁹⁰ from soil by seedlings of *Eucalyptus tereticornis*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 25, p. 1044–1047. 1995.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **Introduction to Phytoremediation**. Cincinnati, OH: National Risk Management Research Laboratory / Office of Research and Development/ Environmental Protection Agency. 2000. 105 p. Disponível em: <<http://www.epa.gov>>. Acesso em: 14 out. 2012.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **The Use of Soil Amendments for Remediation, Revitalization and Reuse**. Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency, 2007. Disponível em: <<http://www.clu-in.org/download/remed/epa-542-r-07-013.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2012.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **Use of Field-Scale Phytotechnology for Chlorinated Solvents, Metals, Explosives and Propellants, and Pesticides**. Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency. 2005. 14 p. Disponível em: <<http://www.cluin.org/download/remed/542-r-05-002.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2012.

FIESP/ICONE. **Outlook Brasil 2022 - projeções para o agronegócio**. Federação das Indústrias do Estado de São Paulo, Instituto de Estudos do Comércio e Negociações Internacionais. São Paulo, 2012. 132 p.

FREITAS, R.; SCHUMACHER, M. V.; CALDEIRA, M. V. W.; SPATHELF, P. Biomassa e conteúdo de nutrientes em povoamento de *Eucalyptus grandis* W. Hill Ex Maiden plantado

em solo sujeito à arenização, no município de Alegrete-RS. **Biomassa & Energia**, v. 1, p. 93-104, 2004.

GARCÍA, G.; FAZ, Á.; CUNHA, M. Performance of *Piptatherum miliaceum* (Smilo grass) in edaphic Pb and Zn phytoremediation over a short growth period. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 54, p. 245-250, 2004.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 229 – 236, 2001.

GARTEN C. T. Modeling the potential role of a forest ecosystem in phytostabilization and phytoextraction of ⁹⁰Sr at a contaminated watershed. **J. Environ Radioact**, 43 p.305– 23. 1999.

GIROTTI, E.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; LOURENZI, C. R.; VIEIRA, R. C. B.; LORENSINI, F.; TRENTIN, E. E. Acúmulo de cobre e zinco no solo após sucessivas aplicações de dejetos líquidos de suínos. **XXXI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo**. Gramado-RS. Ago. 2007.

GÖHRE, V.; PASZKOWSKI, U. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. **Planta**, v. 223, n. 6, p. 1115-1122, may 2006.

GRAMATYKA, P.; NOWOSIELSKI, R.; SAKIEWICZ, P. Recycling of waste electrical and electronic equipment. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v. 20, p. 535-538, 2007.

GRAZIA, C. A.; PESTANA, M. H. D. **Mercúrio antrópico e outros elementos em drenagens associadas às minerações auríferas de lavras do sul**. Porto Alegre: PGAGEM, CPRM/FEPAM. 2008. 62 p.

GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso e metais pesados. In: CURI, R. F.; MARQUES, J. J.; GUILHERME, L. R. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S.; ALVARES V., V. H. (Eds). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 3, p. 55-105, 2003.

HABITAT, UN - United Nations Human Settlements Programme. **Global atlas of excreta, wastewater sludge, and biosolids management: moving forward the sustainable and welcome uses of a global resource**. 2008. 632 p. Disponível em: <http://esa.un.org/iys/docs/san_lib_docs/habitat2008.pdf>. Acesso em: 06 out. 2012.

HASSE, G. **Eucalipto: Histórias de um imigrante vegetal**. Porto Alegre: JÁ Editores 2006. 127 p.

HOODA, P. S. **Trace Elements in Soils**. Ed. 1. United Kingdom: Wiley-Blackwell. 2010. 616 p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Perfil dos Municípios Brasileiros: Meio Ambiente 2002**. Rio de Janeiro 2005, 394 p. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/perfilmunic/meio_ambiente_2002/meio_ambiente2002.pdf>. Acesso em: 02 Jan. 2012.

ISWA - The International Solid Waste Association. **Globalisation and Waste Management: Phase 1 concepts and facts**. 2012. Disponível em: <http://www.iswa.org/en/79/the_international_solid_waste_association.html>. Acesso em: 20 set. 2012.

ITRC - Interstate Technology & Regulatory Council. **Emerging technologies for the remediation of metals in soils - Phytoremediation**. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update. 1997. Disponível em: <www.itrcweb.org>. Acesso em: 05 out. 2012.

ITRC - Interstate Technology & Regulatory Council. **Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised. PHYTO-3**. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update. 2009. Disponível em: <www.itrcweb.org>. Acesso em: 06 out. 2012.

JONDREVILLE, C.; REVY, P.S.; DOURMAD, J.Y. Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter. **Livestock Production Science**, v. 84, p. 147-156, 2003.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. Ed. 4. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2010. 548 p.

KALIŠOVÁ-ŠPIROCHOVÁ, I.; PUNCOCHÁROVÁ, J.; KAFKA, Z.; KUBAL, M.; SOUDEK, P.; VANEK, T. Accumulation of heavymetals by in vitro cultures of plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 3, p. 269-276, 2003.

LASAT, M. M.; KOCHIAN, L. V. Physiology of Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. In: TERRY, N.; BAÑUELOS, G. **Phytoremediation of Contaminated Soil and Water**. Boca Raton, FL: Lewis Publishers, p. 159-169, 2000.

LEPP, N. W. Uptake, mobility and loci of concentrations of heavy metals in trees. In: GLIMMERVEEN, I. (Ed). **Heavy metals and trees**. Proceedings of a Discussion Meeting, Glasgow. Edinburgh: Institute of Chartered Foresters; p. 68-82, 1996.

LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. **Mycorrhiza**, v.7, p. 139-153, 1997.

LINCOLN, J. D.; OGUNSEITAN, O. A.; SHAPIRO, A. A.; SAPHORES, J. D. M. Leaching assessments of hazardous materials in cellular telephones. **Environmental Science & Technology**, v. 41, p. 2572-2578, 2007.

LI, Q.; GUO, X.; XU, X.; ZUO, Y.; WEI, D.; MA, Y. Phytoavailability of copper, zinc and cadmium in sewage sludge-amended calcareous soils. **Pedosphere**, v. 22, p. 254-262, 2012.

LUXRESEARCH. **Technologies turn waste to profit. 2009**. 11 p. Disponível em: <[http://luxresearch.web8.hubspot.com/Portals/86611/docs/research%20downloads/lux_research_technologies_turn_waste_to_profit\[1\].pdf](http://luxresearch.web8.hubspot.com/Portals/86611/docs/research%20downloads/lux_research_technologies_turn_waste_to_profit[1].pdf)>. Acesso em: 12 Nov. 2012.

MACHADO, R. G.; LUPATINI, M.; JÚNIOR, C. M. Estabelecimento a campo de mudas de *Eucalyptus grandis* micorrizadas com *Pisolithus microcarpus* (UFSC Pt 116) em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 19, p. 149-155, 2009.

MCGRATH, S.P.; ZHAO, J.; LOMBI, E. Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. **Advances in Agronomy**, v. 75, p. 1–56. 2002.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10ª Ed. C/CD ROM. Editora: Pearson / Prentice Hall . 2004. 624 p.

MAGALHÃES, M. O. L.; SOBRINHO, N. M. B. A.; SANTOS, F. S.; MAZUR, N. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, p. 805-812, 2011.

MARET, W. Zinc coordination environments in proteins determine zinc functions. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, 19. p. 7-12. 2005.

MLECZKO, P. Mycorrhizal and saprobic macrofungi of two zinc wastes in Southern Poland. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 46, p. 25-38, 2004.

MORAES, P. P. F.; HORN, A. H. Teores dos metais pesados Cr, Cd E Zn em perfis de solos de veredas da bacia do rio do Formoso, município de Buritizeiro, Minas Gerais. **GEONOMOS**, v. 18, p. 78-85, 2010.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras - MG: Editora UFLA, 2006. 729 p.

MOURA, V. P. G.; GUIMARÃES, D. P. Produção de mudas de *Eucalyptus* para o estabelecimento de plantios florestais. **Comunicado Técnico**, nº 85, Embrapa. Brasília, DF, Novembro de 2003.

NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (Eds). **Fertilidade do Solo**. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. 1017 p.

OECD/FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2012-2021**, OECD Publishing and FAO. 2012.

PAVAN, J. A. Viabilidade econômica da produção de Eucaliptos no Rio Grande do Sul. **ABCustos - Associação Brasileira de Custos** - Vol. V nº 1, 78-109 – jan/abr 2010.

PERA, J.; PARLADÉ, J. Inoculación controlada con hongos ectomicorrícicos en la producción de planta destinada a repoblaciones forestales: estado actual en España, Madrid. **Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales**, v.14, p. 419-433, 2005.

PEREIRA, J.C.D.; STURION, J. A.; HIGA, A. R.; HIGA, R. C. V.; SHIMIZU, J. Y. Características da madeira de algumas espécies de eucalipto plantadas no Brasil. Colombo: Embrapa Florestas, **Documentos**, 38, 113p. 2000.

- PUNSHON, T.; DICKINSON, N. M.; LEPP, N. W. The potential of *Salix* clones for bioremediating metal polluted soil. In: GLIMMERVEEN, I. (Ed). **Heavy metals and trees: Proceedings of a Discussion Meeting, Glasgow**. Edinburgh: Institute of Chartered Foresters, p. 93-104, 1996.
- PULFORD, I. D.; WATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees, a review. **Environment International**, v. 29, p. 529-540, 2003.
- RASKIN, I.; ENSLEY, B. Phytoremediation of toxic metals - using plants to clean up the environment. **Plan Science**, v. 160, p. 1073 – 1075, 2000.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, Rio de Janeiro-RJ: Guanabara, Koogan. 2007. 906 p.
- RESENDE, A. V. **Micronutrientes na agricultura brasileira: disponibilidade, utilização e perspectivas**. Série Estudos e Documentos, Coletânea Fertilizantes – IX. CETEM / MCT, 2005. 37 p.
- RIBEIRO FILHO, M. R.; CURI, N.; SIQUEIRA, J.; MOTTA, P. E. F. Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 23, p.453-464, 1999.
- SALT, D. E.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Phytoremediation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Vol. 49, 643-668, 1998.
- SANTANA, R. C.; JÚLIO, N. F. B.; NEVES, C. L. Biomassa e conteúdo de nutrientes de procedências de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* em alguns sítios florestais do Estado de São Paulo. **Scientia Forestalis**, v. 56, p. 155-169, 1999.
- SANTOS, G. C. G.; ABREU, C. A.; CAMARGO, O. A.; ABREU, M. F. Pó-de-aciaria como fonte de zinco para o milho e seu efeito na disponibilidade de metais pesados. **Bragantia** vol. 61 n.3 Campinas Sept./Dec. p. 257-266. 2002.
- SCHUMACHER, M. V.; CALDEIRA, M. V. W. Estimativa da biomassa e do conteúdo de nutrientes de um povoamento de *Eucalyptus globulus* (Labillardière) sub-espécie *maidenii*. **Ciência Florestal**, v. 11, p. 45-53. 2001.
- SCHWITZGUÉBEL, J. Potential of Phytoremediation, an emerging green technology. In: Ecosystem Service and Sustainable Watershed Management in North China. In: International Conference **Proceedings...**, Beijing - China. p. 5, 2000.
- SHETTY, K. G.; HETRICK, B. A. D.; SCHWAB, A. P. Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. **Environmental Pollution**, v. 88, p. 307-314, 1995.
- SILVA, R. F.; ANTONIOLLI, Z. I.; ANDREAZZA, R. Efeito da inoculação com fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 13, p. 33-42, 2003.

SINGH, O. V.; LABANA, S.; PANDEY, G.; BUDHIRAJA, R.; JAIN, R. K. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, p. 405-412, 2003.

SMITH, S. E.; READ, D. **Mycorrhizal Symbiosis**. Ed. 3., London: Elsevier, Academic Press. 2008. 800 p.

SOARES, C. R. F. S.; GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G.; MOREIRA, F. M. S. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 339-348, 2001.

SOARES, C. R. F. S. ; ACCIOLY, A. M. A ; SIQUEIRA, J. O; MOREIRA, F. M. S. Diagnóstico e reabilitação de área degradada pela contaminação por metais pesados. CEMAC; **V Simpósio Nacional sobre Recuperação de Áreas Degradadas**. Lavras, v. 1, p. 56-82. 2002.

SOARES, E. R.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M.; CORRÊA, M. L. T. Drenagem ácida em materiais provenientes da mineração de carvão, de Candiota-RS. **GEONOMOS**, v. 5, p. 67-72, 1997.

SOUSA, N. R.; FRANCO, A. R.; OLIVEIRA, R. S.; CASTRO, P. M. L. Ectomycorrhizal fungi as an alternative to the use of chemical fertilisers in nursery production of *Pinus pinaster*. **Journal of Environmental Management**, v. 95, p. 269-274, 2012.

SOUZA, V. C.; SILVA, R. A.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, p. 612-618, 2006.

STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; STEFFEN, G. P. K.; ECKHARDT, D. P. Micorrização das mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden comercializadas no município de Santa Maria, RS. **Ciência e Natura**, v. 32, p. 25-35, 2010.

STREET, R. A.; KULKARNI, M. G.; STIRK, W. A.; SOUTHWAY, C.; VAN STADEN, J. Toxicity of metal elements on germination and seedling growth of widely used medicinal plants belonging to Hyacinthaceae. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 79, p. 371-376, 2007.

STUCZYNSKI, T. I.; SIEBIELEC, G.; DANIELS, W. L.; MCCARTY, G. C.; CHANEY, R. L. Biological aspects of metal waste reclamation with sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, 1154-1162, 2007.

SWEDISH EPA - Swedish Environmental Protection Agency. **Recycling and disposal of electronic waste**. Health hazards and environmental impacts. Stockholm, Sweden. report 6417, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

UNEP. **Phytoremediation: An Environmentally Sound Technology for Pollution Prevention, Control and Remediation**, November, 2002. Disponível em:

<<http://www.unep.or.jp/Ietc/Publications/Freshwater/FMS2/index.asp>>. Acesso em 20 set. 2012.

UN - United Nations. **Population Distribution, Urbanization, Internal Migration and Development: An International Perspective.** Naciones Unidas, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. 2011. 363 p.

UN - United Nations. **World Urbanization Prospects: The 2011 Revision.** Department of Economic and Social Affairs, Population Division. CD-ROM Edition – Data in digital form (POP/DB/WUP/Rev.2011). 2012.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Introduction to phytoremediation: EPA.** 600, p.99-107. Cincinnati, 2000.

VITAL, M. H. F. Impacto Ambiental de Florestas de Eucalipto. **Revista do BNDES**, v. 14, p. 235-276, 2007.

WHITE, P.J. The pathways of calcium movement to the xylem. **Journal of Experimental Botany**, 52, p. 891-899. 2001.

WHITE, P. J.; WHITING, S. N.; BAKER, A. J. M.; BROADLEY, M. R. Does zinc move apoplastically to the xylem in roots of *Thlaspi caerulescens*? **New Phytologist**, 153, 201-207. 2002.

WHITING, S. N.; REEVES, R. D.; RICHARDS, D.; JOHNSON, M. S.; COOKE, J. A.; MALAISSE, F.; PATON, A.; SMITH, J. A. C.; ANGLE, J. S.; CHANEY, R. L.; GINOCCHIO, R.; JAFFRE, T.; JOHNS, R.; MCINTYRE, T.; PURVIS, O. W.; SALT, D. E.; SCHAT, H.; ZHAO, F. J.; BAKER, A. J. M. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. **Restoration Ecology**, v. 12, p. 106-116, 2004.

ZHELJAZKOVA, V. D.; CRAKERB, L. E.; XINGB, B.; NIELSENC, N. E.; WILCOX, A. Aromatic plant production on metal contaminated soils. **Science of the Total Environment**, Elsevier B.V. 395, p. 51 – 62. 2008.

3 CAPÍTULO I

CRESCIMENTO DE MUDAS DE EUCALIPTO EM SOLO CONTAMINADO COM ZINCO

3.1 Resumo

O zinco (Zn) é encontrado em resíduos industriais, agrícolas e nos resíduos produzidos pela população que, ao serem descartados incorretamente, podem contaminar o solo. A fitorremediação é uma técnica promissora devido as suas vantagens em relação aos métodos físicos e químicos utilizados na descontaminação de solos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna*, *E. dunnii* em solo contaminado por Zn. Foi estabelecido um delineamento fatorial inteiramente casualizado (4x8), com quatro espécies de eucalipto (*E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*) e oito doses de Zn (0, 140, 280, 420, 560, 700, 840 e 980 mg kg⁻¹ de solo), com doze repetições. Após cinco meses de condução das mudas avaliou-se a altura de planta, diâmetro do colo, comprimento da raiz principal, volume radicular, número de folhas, área foliar total, massa seca das folhas, massa seca das raízes, massa seca da aste caulinar e a massa seca total. As doses crescentes de Zn não causaram reduções significativas do comprimento da raiz principal e do número de folhas do *C. citriodora*, em relação à testemunha. Esta espécie apresentou maior altura de planta, comprimento da raiz principal, volume radicular, massa seca da aste caulinar, massa seca das folhas, massa seca das raízes e massa seca total em relação ao *E. grandis*, *E. saligna* e *E. dunnii* em solo contaminado com 980 mg kg⁻¹ de Zn. A adição de 980 mg kg⁻¹ de Zn no solo reduz o crescimento do *E. dunnii*.

Palavras-chave: espécie florestal, fitorremediação, metal pesado, tolerância.

3.2 Introdução

O Zn pode ser encontrado em variados tipos de resíduos ou rejeitos (SOARES et al., 1997; BROWN et al., 2003; RODRÍGUEZ et al., 2009) produzidos atualmente em grande quantidade pela sociedade (SHIGAKI et al., 2006; EPA, 2007; HABITAT, 2008; CHALMIN e GAILLOCHET, 2009; LUXRESEARCH, 2009). Há presença de Zn em resíduos de equipamentos eletrônicos (GRAMATYKA et al., 2007; LINCOLN et al., 2007; ISWA, 2012),

dejetos de suínos (CHANG e PAGE, 2000; DACH e STARMANS, 2005; HOODA, 2010; BASSO et al., 2012), lodo de esgoto e em biossólidos (STUCZYNSKI et al., 2007; KABATA-PENDIAS, 2010), resíduos de fundição (CHANEY et al., 2004), na galvanização de ferro e aço (SWEDISH-EPA, 2011), em rejeitos de mineração de Zn (BROWN et al., 2003; BORGES Jr. et al., 2008), de chumbo (HOODA, 2010), carvão (SOARES et al., 1997) e ouro (GRAZIA e PESTANA, 2008). Além disso, o Zn é utilizado na produção industrial da borracha, plásticos, pigmentos, lubrificantes, pesticidas, baterias, tubulações, aparelhos domésticos e fertilizantes fosfatados (HOODA, 2010; KABATA-PENDIAS, 2010). Com a constante produção e descarte de resíduos contendo Zn, esse elemento atingiu o status de metal pesado lançado em maior quantidade no ambiente terrestre nas últimas cinco décadas, somando 1,35 milhões de toneladas (SINGH et al., 2003).

O Zn é um metal de transição com densidade de $7,13 \text{ g cm}^{-3}$ (KABATA-PENDIAS, 2010) e o 23º elemento mais abundante na Terra (BROADLEY et al., 2007). Elemento essencial para o crescimento das plantas (HOODA, 2010), mas necessário em quantidades muito pequenas (EL-GHAMERY et al., 2003). A matéria seca das plantas normalmente contém até 150 mg kg^{-1} de Zn (RESENDE, 2005), tornando-se geralmente fitotóxico em teores acima de 400 mg kg^{-1} na matéria seca (CHANG e PAGE, 2000; ALKORTA et al., 2004; EPA, 2007). Desse modo, é imprescindível que esse metal não seja acumulado em concentrações excessivas no solo.

Entretanto, a contaminação do solo com Zn tem sido relatada na literatura (CHANG e PAGE, 2000; CHANEY et al., 2004; CONCAS et al., 2006; BORGES Jr. et al., 2008; BUSCHLE et al., 2010; KABATA-PENDIAS, 2010; HOODA, 2010; BLACKSMITH INSTITUTE'S, 2011; UNEP, 2012). Isso tem ocorrido pelo descarte de forma inadequada ou aplicação em excesso de produtos ou resíduos contendo esse metal (SILVEIRA et al., 2003; SANTOS e RODELLA, 2007; BUSCHLE et al., 2010; MORAES e HORN, 2010; SWEDISH-EPA, 2011; LI et al., 2012), tornando-se um problema ambiental de difícil solução. Além disso, a facilidade que o Zn tem de estar adsorvido aos coloides do solo (RESENDE, 2005), dificulta a sua remoção por completo do ambiente contaminado (LEYVAL et al., 1997; KABATA-PENDIAS, 2010; BASSO et al., 2012).

A fitorremediação, por meio de métodos e mecanismos de plantas, pode estabilizar ou até remover parte do Zn contido em solos contaminados (ITRC, 1997; EPA, 2000; SCHWITZGUÉBEL, 2000; UNEP, 2002; ALKORTA et al., 2004). Esta técnica tem se difundido, por ser de baixo custo, quando comparada aos métodos físicos e químicos tradicionais de descontaminação do solo (SINGH et al., 2003; ALKORTA et al., 2004), uma

vez que possibilita manter este solo no local após a remoção dos contaminantes, e pode ser utilizada em grandes áreas moderadamente contaminadas (KALIŠOVÁ-ŠPIROCHOVÁ et al., 2003).

Para o uso na fitorremediação de solos contaminados, buscam-se plantas que apresentem grande produção de fitomassa (EBBS e KOCHIAN, 1998; EPA, 2000; GARCÍA et al., 2004), tolerem as concentrações do metal (ITRC, 1997; WHITING et al., 2004), tenham rápida taxa de crescimento (PUNSHON et al., 1996), possuam valor econômico (PUNSHON et al., 1996; KOS et al., 2003) e que tenham baixo acúmulo de metais nas partes comestíveis, evitando a contaminação da cadeia alimentar (ALKORTA et al., 2004; BHATTACHARYA et al., 2006). Nesse caso, a madeira é uma forma de imobilizar metais por longos períodos se não for utilizada para combustão (PULFORD e WATSON, 2003). As árvores são potenciais candidatas a uso na fitorremediação de solos contaminados (CETESB, 1999; EPA, 2000; UNEP, 2002; PULFORD e WATSON, 2003; GARCÍA et al., 2004; ITRC, 2009). Pois existe uma estreita relação entre produção de biomassa e conteúdo de nutrientes acumulados nas árvores (SANTANA et al., 1999).

Com características inerentes ao que se exige para uma planta fitorremediadora, tem-se o eucalipto, pertencente à família das Mirtáceas, nativas da Oceania, que é cultivado em diversos países (HASSE, 2006), produz grande volume de fitomassa (SCHUMACHER e CALDEIRA, 2001; ALVEZ et al., 2007; VITAL, 2007) e está adaptado as condições de clima do Brasil, sendo utilizado em 75% da área de florestas plantadas até 2011 (ABRAF, 2012). São cultivadas diferentes espécies desta cultura, conforme as condições climáticas e finalidades de uso. *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna* e *Corymbia citriodora*, estão entre as 10 espécies de eucalipto mais cultivadas devido às altas produções e ampla utilidade da madeira (ELDRIDGE, 1993). *Eucalyptus dunnii* é recomendado para cultivos em climas temperados (PALUDZYSZYN FILHO e SANTOS, 2005). Essas quatro espécies tem sua madeira recomendada para usos múltiplos (JOHNSON e ARNOLD, 2000; PALUDZYSZYN FILHO e SANTOS, 2005; VILAS BÔAS et al., 2009; SE NSW PRIVATE FORESTRY, 2012), além disso, *C. citriodora* também pode ser utilizado para produção de óleo essencial (SILVA et al., 2009).

Há relatos do uso de eucalipto, para programas de fitorremediação de solos contaminados com metais pesados (ENTRY e EMMINGHAM, 1995; ITRC, 2009; MAGALHÃES et al., 2011). Devido a sua boa capacidade de transpiração (200-800 litros árvore⁻¹ dia⁻¹), foi utilizado no controle hidráulico de cádmio, cobre, sódio, níquel e mercúrio (EPA, 2005). Poucos são os trabalhos no Brasil que observaram seu desempenho com relação

a solos contaminados com metais pesados. Há relatos de estudos com solução nutritiva e altos teores de Zn (RAMOS et al., 2009), avaliação do desenvolvimento de suas mudas em solo contaminado com cobre (STEFFEN et al., 2011), e cultivo em solo contaminado com Zn e cádmio tratado com calagem (ACCIOLY et al., 2004). A fitorremediação ainda carece de resultados sobre a resposta de algumas espécies em solo contaminado (PADMAVATHIAMMA e LI, 2007). Neste intuito, o trabalho objetivou avaliar o crescimento de mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna*, *E. dunnii* em solo contaminado por Zn.

3.3 Material e Métodos

O experimento foi conduzido entre os meses de outubro de 2011 e março de 2012, na casa de vegetação do viveiro florestal da Universidade Federal de Santa Maria *campus* de Frederico Westphalen – RS, geograficamente localizada à 27° 23' 26" latitude sul, 53° 25' 43" longitude oeste e a 461,30 m de altitude. As espécies utilizadas foram o *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maid., *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson, *Eucalyptus saligna* Sm., *Eucalyptus dunnii* Maiden. O solo utilizado foi classificado como Latossolo Vermelho (SANTOS et al., 2006), cuja análise química consta na tabela 1, a qual foi utilizada para determinar a adubação de base e de cobertura, conforme as recomendações da SBCS (2004) para a cultura do eucalipto. As fontes de nutrientes aplicadas foram cloreto de potássio (K), superfosfato simples (P) e uréia (N). Para estabilização do pH do solo em 5,5 foi aplicada uma mistura de carbonato de cálcio (CaCO₃) e carbonato de magnésio (MgSO₃) na relação molar 3:1. Aguardou-se um período de 50 dias até a estabilização.

Tabela 1 - Características químicas do solo estudado.

pH _{água}	Ca+Mg	Al	H+Al	P	K	Zn	MO	Argila
1:1	-----Cmol _c L ⁻¹ -----			-----mg dm ⁻³ -----			-----%-----	
5,1	4,8	0,4	3,1	1,5	20	1,1	0,7	79

Foi estabelecido um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial (4 x 8) qualitativo em A e quantitativo em D, sendo o fator A quatro espécies de eucalipto (*E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna*, *E. dunnii*), e o fator D oito doses de Zn (0 (teor natural do solo), 140, 280, 420, 560, 700, 840 e 980 mg kg⁻¹ de solo), com doze repetições. A unidade experimental foi composta pelo tubete com capacidade de 120 cm³ contendo uma planta. A fonte de Zn utilizada para contaminar o solo foi o sulfato de Zn (ZnSO₄) solubilizado em água.

As sementes das quatro espécies de eucalipto foram obtidas na FEPAGRO FLORESTAS – Centro de Pesquisa em Florestas. A semeadura foi realizada diretamente nos tubetes preenchidos com solo. Foram semeadas quatro sementes por tubete, e após a emergência procedeu-se o raleio das plântulas, visando à uniformidade das mesmas, que foram cultivadas por cinco meses sob irrigação diária. A adubação de cobertura foi realizada aos três meses a contar da semeadura, com base na análise do solo.

Os parâmetros avaliados foram: altura de planta; diâmetro do colo; comprimento da raiz principal; volume radicular; número de folhas; área foliar total; massa seca radicular; massa seca da haste caulinar; massa seca das folhas e massa seca total. Durante a coleta do experimento, realizou-se a contagem do número de folhas por planta, que foram separadas para a obtenção da área foliar total a partir de imagens das folhas utilizando câmera fotográfica digital de 12 megapixels, e calculada pelo Software para Análise Foliar - AFSOFT[®], desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária (JORGE e SILVA, 2009). Após esta avaliação as folhas foram postas para secar em estufa. O diâmetro do colo foi obtido com paquímetro digital através de medida na região do colo da planta. Após, as plantas foram seccionadas na região do colo para medição da altura de planta com régua graduada, obtendo-se os valores a partir do colo da planta até o meristema apical, sendo então postos para secar em estufa. O comprimento da raiz principal foi medido com régua graduada, sendo as medidas observadas entre o colo da planta até o ápice da raiz principal. O volume radicular foi obtido pelo método de deslocamento de água em proveta, adaptado da metodologia utilizada em solos pela Embrapa (1997). Após a secagem em estufa a 60°C até apresentar massa constante, foram obtidas as massas secas das folhas, dos caules e das raízes, que foram pesadas em balança analítica. Estes valores foram somados, resultando na massa seca total das plantas.

Os dados foram submetidos à análise da variância pelo Teste F ($p \leq 0,05$) e a partir da indicação de interação significativa entre os fatores, foram realizados os devidos desdobramentos. Para o fator qualitativo (A), as médias de cada espécie foram comparadas

dentro de cada dose pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, e para o fator quantitativo (D), as médias foram ajustadas por equações de regressão dentro de cada espécie, obtidas por meio da análise de regressão polinomial realizada no programa SISVAR (FERREIRA, 2008), tendo-se como base os níveis de significância maiores que 95% ($p \leq 0,05$).

Para as variáveis que apresentaram ajuste linear nas equações de regressão, determinou-se a curva de resposta às doses, ajustada pelo modelo matemático log-logístico de Seefeldt et al. (1995), para encontrar a dose de Zn necessária para causar 50% de injúria nas mudas de eucalipto:

$$y = A + (B - A) / 1 + \text{Exp}\{b[\log(x) - \log(D_{50})]\}$$

Onde: y, é a variável resposta da planta expressa em percentagem com relação a testemunha; x (variável independente), representa a dose de Zn (mg kg^{-1} de solo); B, o limite superior da curva; A, o limite inferior da curva; b, a declividade da curva (inclinação da curva proporcional próximo a D_{50} (ponto de inflexão)); e D_{50} , a dose de Zn (mg kg^{-1} de solo) necessária para causar 50% de injúria nas mudas de eucalipto em relação à testemunha.

3.4 Resultados e Discussão

A análise da variância pelo Teste F ($p \leq 0,05$) indicou interação significativa ($p \leq 0,05$) entre as espécies de eucalipto e as crescentes doses de Zn aplicadas no solo, expressa por meio das variáveis avaliadas (Tabela 2 e 3; Figura 1 e 2). Na comparação entre espécies, verificou-se no solo sem contaminação com Zn, que *E. grandis* apresentou a maior altura, não diferindo estatisticamente da espécie *E. saligna* (Tabela 2 e 3). Paludzyszyn Filho et al. (2006) descreveram *E. grandis* como uma espécie de rápido crescimento, e com insuperável incremento volumétrico quando cultivado dentro das suas exigências ambientais e em solo sem contaminantes. Del Quiqui et al. (2001) obtiveram altura e diâmetro à altura do peito (DAP), 23% maiores para *E. grandis* com relação ao *C. citriodora*.

Tabela 2 - Altura de planta, diâmetro do colo, comprimento da raiz principal, volume radicular, número de folhas e área foliar de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a adição de doses crescente de Zn.

Espécie	Doses de Zn (mg kg ⁻¹ de solo)							
	0	140	280	420	560	700	840	980
	----- Altura de planta (cm) -----							
<i>E. grandis</i>	23,17 a*	20,28 a	19,90 a	19,53 a	18,42 a	16,17 a	15,05 a	11,72 ab
<i>C. citriodora</i>	20,25 bc	18,70 a	16,25 b	15,92 b	16,08 b	14,50 a	13,83 ab	13,03 a
<i>E. saligna</i>	21,77 ab	20,03 a	18,92 a	19,20 a	17,73 ab	15,88 a	14,75 a	10,27 b
<i>E. dunnii</i>	19,12 c	20,75 a	20,53 a	17,73 ab	15,93 b	11,58 b	12,13 b	6,70 c
CV**	11,64%							
	----- Diâmetro do colo (mm) -----							
<i>E. grandis</i>	2,40 a	1,95 bc	1,89 bc	1,91 b	1,74 bc	1,64 a	1,46 bc	1,25 a
<i>C. citriodora</i>	2,23 a	1,83 c	1,67 c	1,74 b	1,70 c	1,58 a	1,35 c	1,42 a
<i>E. saligna</i>	2,45 a	2,49 a	2,52 a	2,55 a	2,68 a	1,89 a	1,80 ab	1,28 a
<i>E. dunnii</i>	2,24 a	2,23 ab	2,22 ab	2,35 a	2,13 b	1,80 a	1,86 a	1,06 a
CV	14,77%							
	----- Comprimento da raiz principal (cm) -----							
<i>E. grandis</i>	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	12,41 ab
<i>C. citriodora</i>	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	12,91 a
<i>E. saligna</i>	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	12,71 a	13,00 a	11,75 b
<i>E. dunnii</i>	13,00 a	13,00 a	13,00 a	13,00 a	12,81 a	12,47 a	12,88 a	11,58 b
CV	5,14%							
	----- Volume radicular (cm ³) -----							
<i>E. grandis</i>	1,60 a	1,07 ab	1,14ab	1,07 a	1,70 a	1,15 a	1,10 a	0,64 a
<i>C. citriodora</i>	0,95 b	0,81 ab	0,85 b	0,77 a	0,63 b	0,58 bc	0,67 b	0,70 a
<i>E. saligna</i>	0,67 b	0,76 b	0,93 b	0,84 a	0,67 b	0,71 b	0,56 bc	0,41 ab
<i>E. dunnii</i>	0,95 b	1,14 a	1,45 a	0,74 a	0,40 b	0,29 c	0,23 c	0,13 b
CV	27,56%							
	----- Número de folhas -----							
<i>E. grandis</i>	23,00 a	22,00 a	22,00 a	19,00 ab	19,00 a	17,00 a	19,00 a	16,00 b
<i>C. citriodora</i>	18,00 b	18,00 b	18,00 b	16,00 b	18,00 a	17,00 a	16,00 a	17,00 ab
<i>E. saligna</i>	22,00 a	20,00 ab	19,00 ab	20,00 a	19,00 a	18,00 a	19,00 a	20,00 a
<i>E. dunnii</i>	21,00 ab	18,00 b	18,00 b	17,00 ab	17,00 a	16,00 a	17,00 a	14,00 b
CV	13,74%							
	----- Área foliar total (cm ²) -----							
<i>E. grandis</i>	92,72 a	65,79 a	64,82 a	55,77 a	56,94 a	40,63 a	40,26 a	32,00 a
<i>C. citriodora</i>	66,18 b	55,20 a	50,56 ab	41,80 ab	44,53 ab	33,23 a	33,76 a	28,37 ab
<i>E. saligna</i>	70,49 b	55,96 a	44,74 b	38,92 b	35,45 b	34,13 a	30,56 a	28,38 ab
<i>E. dunnii</i>	63,41 b	69,09 a	53,13 ab	54,01 a	41,32 b	35,62 a	29,84 a	14,16 b
CV	20,48 %							

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**CV = coeficiente de variação.

A menor altura de planta foi obtida pelo *E. dunnii*, sem diferença significativa para o *C. citriodora* (Tabela 2). Esses resultados corroboram com a descrição realizada por Paludzyszyn Filho et al. (2006), os quais descreveram que *E. dunnii* em cultivos comerciais pode apresentar, inicialmente um crescimento próximo ao de *E. grandis* e *E. saligna*, com tendência a declínio de crescimento ao longo do tempo. Resultados evidenciando menor altura para *E. dunnii* e *C. citriodora* em comparação com *E. grandis* e outras espécies, também foram obtidos por Oro et al. (2012).

Entretanto, na maior dose de Zn aplicada, *C. citriodora* e *E. grandis* apresentaram significativamente maior altura de planta, comprimento da raiz principal, maior volume radicular e área foliar total, não diferindo do *E. saligna*. A espécie *C. citriodora* apresentou maior número de folhas não diferindo do *E. saligna*, enquanto que o *E. dunnii* foi a espécie mais afetada nessas variáveis (Tabela 2). Respostas semelhantes foram obtidas por Graziotti (1999) e Silveira et al. (2003), onde *E. grandis* reteve os metais em suas raízes, reduzindo a translocação destes para a parte aérea, minimizando os efeitos danosos nas folhas.

Geralmente, o crescimento de plantas sob elevadas concentrações de metais pesados é altamente limitado, podendo estas inclusive sofrer alterações morfológicas (KABATA-PENDIAS, 2010). Além disso, o Zn em altas concentrações no solo pode limitar e retardar o crescimento das plantas caso estas, não apresentem mecanismos de tolerância a este metal (CAILLE et al., 2004; HOODA, 2010). Na maior dose não foi observado diferença significativa no diâmetro do colo entre as espécies (Tabela 2).

Observou-se que *C. citriodora*, na dose mais elevada de Zn, apresentou maior massa seca radicular e massa seca de folhas, não diferindo estatisticamente do *E. grandis* e *E. saligna*. Esta espécie apresentou maior massa seca total e maior massa seca do colo, não diferindo do *E. grandis*. Por outro lado, o *E. dunnii* também foi a espécie mais afetada nessas variáveis (Tabela 3). Este efeito fitotóxico causado principalmente as raízes do *E. dunnii*, pode estar relacionado ao Zn afetar o crescimento radicular por meio da perturbação dos processos fisiológicos, afetando a mitose e causando a morte celular (EL-GHAMERY et al., 2003) e reduzindo o desenvolvimento radicular (HOODA, 2010). Quanto ao *C. citriodora* os resultados obtidos podem estar relacionados a possível existência de mecanismos de detoxificação de metais pesados na parte aérea desta espécie, conforme Graziotti et al. (2003).

Tabela 3 - Massa seca da aste caulinar, massa seca das raízes, massa seca das folhas e massa seca total de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a adição de doses crescente de Zn.

Espécie	Doses de Zn (mg kg ⁻¹ de solo)							
	0	140	280	420	560	700	840	980
-----Massa seca da aste caulinar (g)-----								
<i>E. grandis</i>	0,27 a*	0,17 b	0,17 ab	0,17 a	0,15 ab	0,12 b	0,10 ab	0,06 b
<i>C. citriodora</i>	0,30 a	0,24 a	0,18 ab	0,20 a	0,17 a	0,18 a	0,14 a	0,11 a
<i>E. saligna</i>	0,22 b	0,21 ab	0,16 b	0,17 a	0,16 ab	0,10 bc	0,11 ab	0,06 b
<i>E. dunnii</i>	0,20 b	0,22 a	0,21 a	0,16 a	0,12 b	0,06 c	0,07 b	0,02 b
CV**	21,06%							
-----Massa seca radicular (g)-----								
<i>E. grandis</i>	0,34 a	0,22 ab	0,23 a	0,19 a	0,20 a	0,15 a	0,16 a	0,10 a
<i>C. citriodora</i>	0,21 b	0,17 b	0,18 a	0,17 a	0,12 b	0,10 ab	0,10 bc	0,13 a
<i>E. saligna</i>	0,24 b	0,25 a	0,20 a	0,20 a	0,17 ab	0,13 a	0,15 ab	0,08 ab
<i>E. dunnii</i>	0,26 b	0,22 a	0,20 a	0,17 a	0,12 b	0,07 b	0,09 c	0,02 b
CV	23,24 %							
-----Massa seca das folhas (g)-----								
<i>E. grandis</i>	0,53 a	0,39 a	0,35 a	0,36 a	0,36 a	0,33 a	0,26 a	0,17 ab
<i>C. citriodora</i>	0,32 b	0,45 a	0,36 a	0,51 a	0,43 a	0,32 a	0,35 a	0,28 a
<i>E. saligna</i>	0,39 ab	0,44 a	0,36 a	0,38 a	0,35 a	0,26 a	0,33 a	0,13 ab
<i>E. dunnii</i>	0,47 ab	0,49 a	0,43 a	0,42 a	0,33 a	0,18 a	0,22 a	0,07 b
CV	22,52 %							
-----Massa seca total (g)-----								
<i>E. grandis</i>	1,14 a	0,78 a	0,75 a	0,72 a	0,71 a	0,6 a	0,52 ab	0,33 ab
<i>C. citriodora</i>	0,83 b	0,86 a	0,72 a	0,88 a	0,72 a	0,6 a	0,59 ab	0,52 a
<i>E. saligna</i>	0,85 b	0,90 a	0,72 a	0,75 a	0,68 a	0,49 ab	0,59 a	0,27 b
<i>E. dunnii</i>	0,93 ab	0,93 a	0,84 a	0,75 a	0,57 a	0,31 b	0,38 b	0,11 b
CV	21,14 %							

*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**CV = coeficiente de variação.

A altura das plantas foi reduzida de forma linear no *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna*, e de forma quadrática negativa no *E. dunnii* em função da aplicação das doses crescentes de Zn (Figura 1). A maior dose de Zn aplicada reduziu a altura das espécies de eucalipto, respectivamente, em 49%, 36%, 53% e 65%, com relação à testemunha de cada espécie. E a dose de Zn necessária para reduzir em 50% (D_{50}) a altura do *E. grandis*, *C. citriodora* e do *E. saligna*, respectivamente foi de 1.124, 2.155 e 1.038 mg kg⁻¹ de Zn aplicados no solo. O ajuste quadrático da altura média do *E. dunnii*, teve seu ponto de máxima na dose 54 mg kg⁻¹, onde as plantas foram 5% mais altas que a testemunha.

O acréscimo de altura do *E. dunnii* partindo do solo sem adição de Zn até o ponto máximo da equação quadrática negativa que resulta na dose de 54 mg kg⁻¹ de Zn, pode estar relacionado a uma maior necessidade de Zn por parte desta espécie. Isso também foi observado por Freddo et al. (1999), que ao comparar quatro espécies de eucalipto constataram que o *E. dunnii* continha maior teor de elementos minerais em sua madeira, o que pode estar relacionado a maior exigência nutritiva dessa espécie em comparação com *E. globulus*, *E. grandis* e *E. saligna*. Essa necessidade, somada a essencialidade do Zn, que desempenha funções metabólicas, atuando principalmente como componente de uma variedade de enzimas, pode ter desencadeado a resposta positiva das espécies a adição de Zn no solo até próximo a dose de 140 mg kg⁻¹. A partir dessa dose, os danos fisiológicos podem ter limitado o desenvolvimento do *E. dunnii*, como por exemplo, a reação do Zn, em altas concentrações com grupos de fosfatos e grupos ativos de ADP ou ATP (KABATA-PENDIAS, 2010).

O diâmetro do colo foi reduzido linearmente no *E. grandis* e *C. citriodora*, e de forma quadrática negativa no *E. saligna* e *E. dunnii*, em função da aplicação de doses crescentes de Zn (Figura 1). A dose de Zn necessária para reduzir em 50% (D₅₀) o diâmetro do colo do *E. grandis* e do *C. citriodora*, respectivamente é de 1.495 e 1.688 mg kg⁻¹ de Zn aplicados no solo. O ajuste quadrático do diâmetro do colo do *E. saligna*, teve seu ponto de máxima na dose 254 mg kg⁻¹, apresentando um diâmetro de colo 5,3% superior ao da testemunha. *E. dunnii* teve seu ponto de máxima na dose 300 mg kg⁻¹, sendo 0,7% superior ao diâmetro do colo da testemunha.

A aplicação de doses crescentes de Zn não causou efeito significativo no comprimento da raiz principal do *E. grandis*, *C. citriodora* e *E. saligna*, enquanto o *E. dunnii*, respondeu de forma quadrática negativa (Figura 1 e Tabela 4), tendo ponto de máxima em 298 mg kg⁻¹. Esse resultado sugere que a partir desta dose o Zn passou a causar uma possível perturbação dos processos fisiológicos, afetando a mitose e causando a morte celular (El-Ghamery et al., 2003). Tal constatação, também foi relatada por Hooda (2010), onde descreve que o excesso de Zn geralmente reduz o comprimento da raiz.

Não se obteve ajuste do modelo matemático para o volume radicular do *E. grandis*, enquanto que o *C. citriodora* e o *E. dunnii*, tiveram volume radicular reduzido linearmente. O *E. saligna* respondeu de forma quadrática negativa a aplicação de doses crescentes de Zn, com ponto de máxima em 383 mg kg⁻¹, sendo 26,9% superior ao volume radicular da testemunha (Tabela 4). A maior dose de Zn aplicada (980 mg kg⁻¹), reduziu o volume radicular do *C. citriodora* em 26%, *E. saligna* em 38% e do *E. dunnii* em 86%, com relação a testemunha de cada espécie. E a dose de Zn necessária para reduzir em 50% (D₅₀) o volume

radicular do *C. citriodora* e do *E. dunnii*, respectivamente é de 1.125 e 551 mg kg⁻¹ de Zn aplicados no solo.

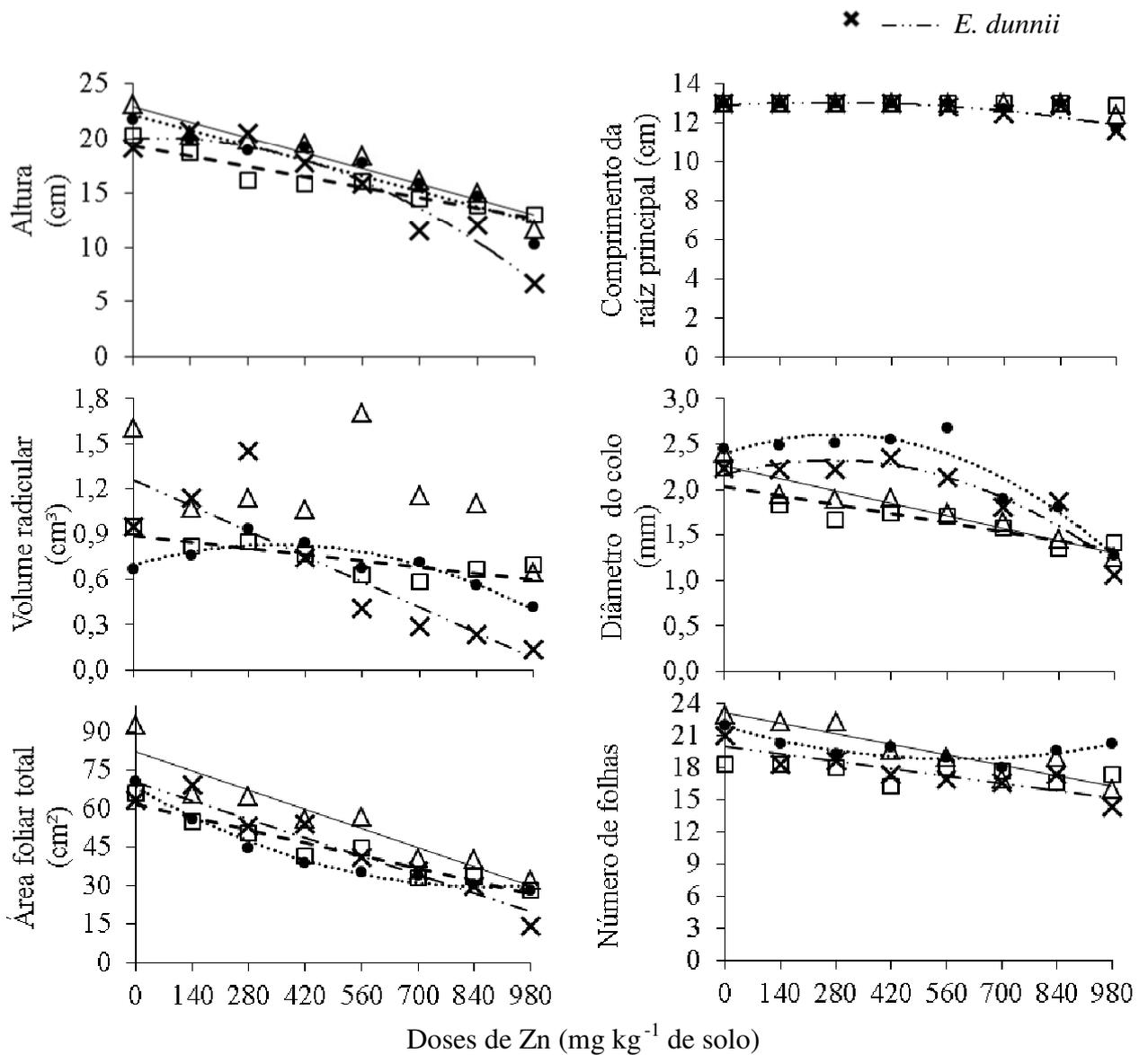


Figura 1 – Linhas de tendência referentes aos modelos ajustados obtidos na análise de regressão das variáveis, altura das plantas, diâmetro do colo, comprimento da raiz principal, volume radicular, número de folhas e área foliar total de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, cultivados em Latossolo Vermelho submetido a doses crescentes de Zn (n = 12).

Tabela 4 - Modelos ajustados das equações de regressão, D_{50} e coeficientes de determinação obtidos para a altura de planta, diâmetro do colo, comprimento da raiz principal (CRP), volume radicular, número de folhas, área foliar total, massa seca das folhas, massa seca da haste caulinar (MSAC), massa seca das raízes e massa seca total de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna*, *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a doses crescentes de Zn.

Espécie	Variável	Equação de regressão	D_{50} *	R ²
<i>E. grandis</i>	Altura de planta (cm)	$y = 22,97 - 0,010088x$	1.124	0,93
	Diâmetro do colo (mm)	$y = 2,26 - 0,000971x$	1.495	0,91
	CRP (cm)	ns	-	-
	MSAC (g)	$y = 0,23 - 0,000169x$	507	0,86
	Volume radicular (cm ³)	na	-	-
	Número de folhas	$y = 23,22 - 0,007001x$	2.020	0,86
	Área foliar total (cm ²)	$y = 82,12 - 0,053071x$	643	0,89
	Massa seca das folhas (g)	$y = 0,48 - 0,000276x$	876	0,81
	Massa seca radicular (g)	$y = 0,29 - 0,000190x$	553	0,80
	Massa seca total (g)	$y = 1,00 - 0,000635x$	671	0,84
<i>C. citriodora</i>	Altura de planta (cm)	$y = 19,40 - 0,006797x$	2.155	0,92
	Diâmetro do colo (mm)	$y = 2,04 - 0,000712x$	1.688	0,81
	CRP (cm)	ns	-	-
	MSAC (g)	$y = 0,27 - 0,000161x$	751	0,87
	Volume radicular (cm ³)	$y = 0,89 - 0,000292x$	1.125	0,67
	Número de folhas	ns	-	-
	Área foliar total (cm ²)	$y = 61,75 - 0,035810x$	829	0,93
	Massa seca das folhas (g)	na	-	-
	Massa seca radicular (g)	$y = 0,20 - 0,000101x$	1.018	0,75
	Massa seca total (g)	$y = 0,89 - 0,000348x$	1.139	0,76
<i>E. saligna</i>	Altura de planta (cm)	$y = 22,21 - 0,009990x$	1.038	0,89
	Diâmetro do colo (mm)	$y = 2,39 + 0,001525x - 3.10^{-6}x^2$	-	0,91
	CRP (cm)	ns	-	-
	MSAC (g)	$y = 0,22 - 0,000155x$	589	0,91
	Volume radicular (cm ³)	$y = 0,70 + 0,000766x - 1.10^{-6}x^2$	-	0,85
	Número de folhas	$y = 21,89 - 0,010x + 9.10^{-6}x^2$	-	0,78
	Área foliar total (cm ²)	$y = 61,38 - 0,038866x$	589	0,86
	Massa seca das folhas (g)	na	-	-
	Massa seca radicular (g)	$y = 0,26 - 0,000158x$	834	0,91
	Massa seca total (g)	$y = 0,92 - 0,000539x$	889	0,83
<i>E. dunnii</i>	Altura de planta (cm)	$y = 20,04 + 0,00171x - 16.10^{-4}x^2$	-	0,94
	Diâmetro do colo (mm)	$y = 2,16 + 0,001202x - 2.10^{-6}x^2$	-	0,90
	CRP (cm)	$y = 12,92 + 0,001193x - 2.10^{-6}x^2$	-	0,72
	MSAC (g)	$y = 0,24 - 0,000218x$	583	0,90
	Volume radicular (cm ³)	$y = 1,26 - 0,00120x$	551	0,73
	Número de folhas	$y = 20,00 - 0,004932x$	2.020	0,79
	Área foliar total (cm ²)	$y = 70,34 - 0,051557x$	719	0,93
	Massa seca das folhas (g)	$y = 0,53 - 0,000427x$	688	0,89
	Massa seca radicular (g)	$y = 0,26 - 0,000238x$	534	0,97
	Massa seca total (g)	$y = 1,04 - 0,000884x$	629	0,93

ns = não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$); na = não se obteve ajuste. *Dose de Zn em mg kg⁻¹ de solo necessária para causar 50% de injúria nas plantas.

O número de folhas foi reduzido de forma linear no *E. grandis* e no *E. dunnii* em função da aplicação das doses crescentes de Zn. Já para o *E. saligna* obteve-se uma resposta quadrática positiva, com ponto de mínima na dose de 556 mg kg⁻¹, tendo o número de folhas reduzido em 13% com relação a testemunha. Para o *C. citriodora*, não se obteve ajuste significativo (Tabela 4), demonstrando que as doses de Zn não afetaram a emissão de folhas desta espécie. Kabata-Pendias (2010), descreve que espécies tolerantes podem reduzir o efeito de teores excessivos de Zn, por adaptação metabólica e complexante, limitando a presença do metal nas células ou por imobilização no interior das células. A dose de 980 mg kg⁻¹ de Zn reduziu a altura do *E. grandis* em 30%, do *E. saligna* em 8% e do *E. dunnii* em 32% com relação ao número de folhas da testemunha de cada espécie. E a dose de Zn necessária para reduzir em 50% (D₅₀) o número de folhas do *E. grandis* e do *E. dunnii*, é de 2.020 mg kg⁻¹ de Zn aplicados no solo.

As áreas foliares das quatro espécies apresentaram ajuste linear negativo em relação à adição de doses crescentes de Zn no solo. Na comparação com suas respectivas testemunhas, as plantas cultivadas no solo com aplicação de 980 mg kg⁻¹ de Zn, manifestaram redução em sua área foliar total em 65% para o *E. grandis*, 57% para o *C. citriodora*, 60% para o *E. saligna* e 78% para o *E. dunnii*. E a dose de Zn aplicada no solo, que reduziu em 50% (D₅₀) as áreas foliares é de, 643 mg kg⁻¹ para o *E. grandis*, 829 mg kg⁻¹ para o *C. citriodora*, 589 mg kg⁻¹ para o *E. saligna* e 719 mg kg⁻¹ para o *E. dunnii*. Os danos causados pela toxidez de Zn podem estar ligados à indução a clorose por deficiência de ferro, ou por toxicidade direta aos processos da folha, que também limita o seu crescimento (HOODA, 2010).

As quatro espécies de eucalipto estudadas apresentaram redução linear na massa seca da haste caulinar com a adição das doses de Zn (Figura 2). Na maior dose (980 mg kg⁻¹ de Zn) essas reduções, em relação as suas testemunhas, foram de 79% para *E. grandis*, 62% para *C. citriodora*, 73% para *E. saligna* e 90% para *E. dunnii*. E a dose de Zn aplicada no solo, que reduziu em 50% (D₅₀) a massa seca da haste caulinar das espécies de eucalipto é de, 507 mg kg⁻¹ para o *E. grandis*, 751 mg kg⁻¹ para o *C. citriodora*, 589 mg kg⁻¹ para o *E. saligna* e 583 mg kg⁻¹ para o *E. dunnii*. Uma redução linear da matéria seca de *E. urophylla* cultivado em solução nutritiva com doses crescentes de Zn também foi observada por Ramos et al. (2009).

A massa seca das folhas, do *E. grandis* e do *E. dunnii*, também foi reduzida linearmente com o aumento das doses de Zn aplicadas, sendo que na maior dose aplicada (980 mg kg⁻¹ de Zn) no solo, a redução em relação a testemunha foi de 70% e 85% respectivamente. E a dose de Zn necessária para reduzir em 50% (D₅₀) a massa seca das folhas do *E. grandis* e do *E. dunnii*, respectivamente é de 876 e 688 mg kg⁻¹ de Zn aplicados

no solo. Enquanto que para o *C. citriodora* e o *E. saligna* não foi possível o ajuste da equação para esta variável (Tabela 4).

Na variável massa seca radicular, as quatro espécies de eucalipto apresentaram redução linear com o aumento das doses de Zn aplicadas no solo. A redução da massa seca radicular das espécies na dose de 980 mg kg⁻¹ de Zn no solo, em relação as plantas de sua referida espécie, cultivadas em solo sem adição de Zn, foi de 71% para *E. grandis*, 39% para *C. citriodora*, 68% para *E. saligna* e 90% para *E. dunnii*. A dose de Zn aplicada no solo, que reduziu em 50% (D₅₀) a massa seca total das espécies de eucalipto foi de, 553 mg kg⁻¹ para *E. grandis*, 1018 mg kg⁻¹ para *C. citriodora*, 834 mg kg⁻¹ para *E. saligna* e 534 mg kg⁻¹ para *E. dunnii*.

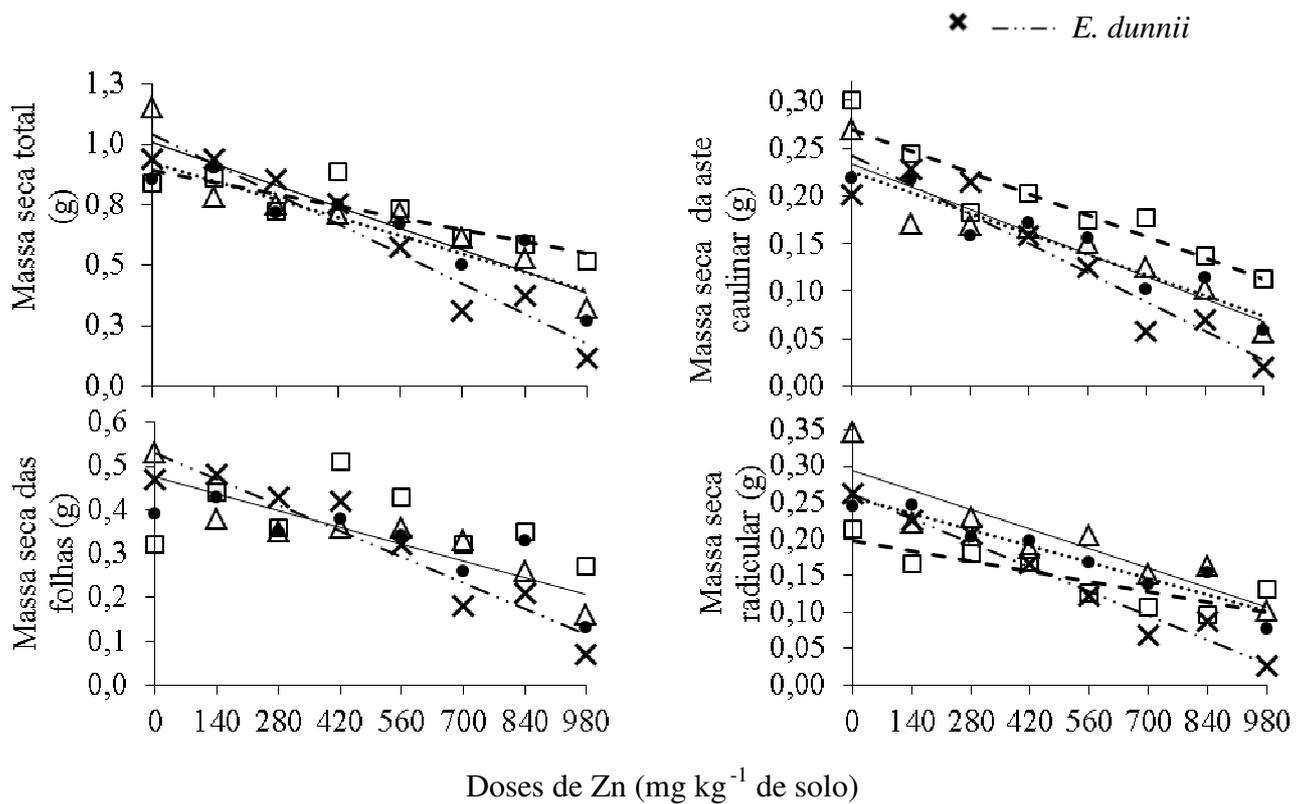


Figura 2 – Linhas de tendência referentes aos modelos ajustados obtidos na análise de regressão e os pontos médios das variáveis, massa seca total, massa seca das folhas, massa seca da aste caulinar e massa seca radicular de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* cultivados em Latossolo Vermelho submetido a adição de doses crescente de Zn. (n = 12).

Da mesma forma, a variável massa seca total, das quatro espécies, foi reduzida de forma linear conforme o aumento das doses de Zn aplicadas (Figura 2). A redução da massa seca total das espécies na dose de 980 mg kg⁻¹ de Zn no solo, em relação as suas referidas testemunhas, foi de 72% para *E. grandis*, 38% para *C. citriodora*, 68% para *E. saligna* e 88% para *E. dunnii*. E a dose de Zn aplicada no solo, que reduziu em 50% (D₅₀) a massa seca total das espécies de eucalipto é de, 671 mg kg⁻¹ para *E. grandis*, 1.139 mg kg⁻¹ para *C. citriodora*, 889 mg kg⁻¹ para *E. saligna* e 629 mg kg⁻¹ para *E. dunnii*. A redução na produção de biomassa também foi relatada por Pavlíková et al. (2008). Conforme estes autores, a alta concentração de Cd e Zn absorvida por espinafre do solo contaminado afetou o funcionamento da rubisco e a atividade de outras enzimas.

O efeito das crescentes doses de Zn em cada espécie reduziu os valores das variáveis, altura de planta, diâmetro do colo, área foliar total, massa seca da aste caulinar, massa seca radicular e massa seca total, em relação às testemunhas sem adição de Zn, sendo *E. dunnii* a espécie que apresentou as maiores reduções em todas as variáveis (Figura 1 e 2). Street et al. (2007) estudando os efeitos de sensibilidade e tolerância a metais pesados (Cu, Zn, Cd, Pb e Hg) sobre a germinação e desenvolvimento de plântulas de *Bowiea volubilis*, *Eucomis autumnalis* e *Merwillia natalensis*, pertencentes a um mesmo grupo de plantas medicinais cultivadas na África do Sul, verificaram que as espécies responderam de forma diferenciada as concentrações de metais testados, e na maioria dos casos, o crescimento das plântulas foi inferior ao da testemunha. Diferentes níveis de absorção de Zn entre espécies de eucalipto foram observados por Assareh et al. (2008). Respostas distintas entre as espécies de eucalipto *E. maculata* e *E. urophylla* à elevação da dose de Zn, foram relatadas por Soares et al. (2001), sendo que *E. urophylla* apresentou menor tolerância ao metal. Essa redução pode estar associada à ação nociva que o Zn em altas concentrações causa no DNA das células de plantas menos tolerantes ao metal (GICHNER et al., 2006).

As doses crescentes de Zn não causaram reduções significativas nas variáveis, comprimento da raiz principal e número de folhas do *C. citriodora*, em relação a sua testemunha, (Tabela 4 e Figura 1). Além disso, foi a espécie que apresentou a maior massa seca da aste caulinar na maior dose de Zn aplicada no solo (Tabela 3). Isso pode indicar uma possível tolerância dessa espécie ao menos até as doses de Zn testadas no trabalho. Esse resultado corrobora com os de Graziotti (1999), que se refere ao *C. citriodora* como tolerante a Zn e Cd, indicando que esta espécie faz uso de algum mecanismo de destoxificação dos metais na sua parte aérea. O *C. citriodora* apresentou indícios de ser uma espécie promissora

para uso na fitorremediação, entretanto, recomenda-se a realização de estudos em condições de campo para avaliação da produção de fitomassa em solo contaminado com Zn.

3.5 Conclusões

E. dunnii, apresenta maior redução do crescimento em relação à *E. grandis*, *C. citriodora* e *E. saligna* com a adição de doses crescentes de Zn no solo.

C. citriodora apresenta maior tolerância que *E. grandis*, *E. saligna* e *E. dunnii* em solo contaminado com 980 mg kg⁻¹ de Zn.

As variáveis, altura, diâmetro do colo, área foliar total, massa seca radicular e massa seca total em mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* são reduzidas com a aplicação de até 980 mg kg⁻¹ de Zn no solo.

3.6 Referências Bibliográficas

ABRAF - Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário estatístico da ABRAF 2012, ano base 2011**. Brasília, DF, 2012. 150 p.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O.; CURI, N.; MOREIRA, F. M. S. Amenização do calcário na toxidez de zinco e cádmio para mudas de *Eucalyptus camaldulensis* cultivadas em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 775-783, 2004.

ALKORTA, I.; HERNANDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J. M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3, p. 71-90, 2004.

ALVES, A. M. C.; SILVA, J. A. A.; FERREIRA, R. L. C.; BARRETO, L. P. Quantificação da produção de biomassa em clones de eucaliptos com 4,5 anos, no polo gesseiro do Araripe-PE. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 48, p.161-173, 2007.

ASSAREH, M. H.; SHARIAT, A.; GHAMARI-ZARE, A. Seedling response of three *Eucalyptus* species to copper and zinc toxic concentrations. **Caspian Journal of Environmental Sciences**, v. 6, p. 97-103, 2008.

BASSO, C. J.; CERETTA, C. A.; FLORES, E. M. M.; GIROTTO, E. Teores totais de metais pesados no solo após aplicação de dejetos líquidos de suínos. **Ciência Rural**, v.42, p. 653-659, 2012.

BHATTACHARYA, A.; ROUTH, J.; JACKS, G.; BHATTACHARYA, P.; MORTH, M. Environmental assessment of abandoned mine tailings in Adak, Vasterbotten district (northern Sweden). **Applied Geochemistry**, v. 21, p. 1760-1780, 2006.

BLACKSMITH INSTITUTE'S. **The World's Worst Toxic Pollution Problems, Report 2011**, The Top Ten of the Toxic Twenty. 2011.

BORGES JR, M.; MELLO, J. W. V.; SCHAEFER, C. E.G. R.; DUSSIN, T. M.; ABRAHÃO, W. A. P. Valores de referência local e avaliação da contaminação por Zn em solos adjacentes a áreas mineradas no município de Vazante-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2883-2893, 2008.

BROADLEY, M. R.; WHITE, P. J.; HAMMOND, J. P.; ZELKO, I.; LUX, A. Zinc in plants. Tansley review. **New Phytologist**, v. 173, p. 677-702, 2007.

BROWN, S. L.; HENRY, C. L.; CHANEY, R. L.; COMPTON, H.; DEVOLDER, P. S. Using municipal biosolids in combination with other residuals to restore metal-contaminated mining areas. **Plant Soil**, v. 249, p. 203-215, 2003.

BUSCHLE, B. N.; PALMEIRO, J. K.; SADE, Y. B.; MELO, V. F.; ANDRADE, M. G.; BATISTA, A. H. Cinética de liberação de chumbo de solos de área de mineração e metalurgia de metais pesados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1865-1874, 2010.

CAILLE, N.; SWANWICK, S.; ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* from arsenic contaminated soils and the effect of liming and phosphate fertilization. **Environmental Pollution**, v. 132, p. 113-120, 2004.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Manual de gerenciamento de áreas contaminadas. Capítulo X, Investigação para Remediação**. Projeto CETESB-GTZ. Cooperação Técnica Brasil-Alemanha. 2.ed. São Paulo, 1999. 389p. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/Capitulo_X.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2012.

CHALMIN, P.; GAILLOCHET, C. **From waste to resource: an abstract of world waste survey 2009, Paris, Veolia, Cyclope, 2009**. Disponível em: <http://www.uncrd.or.jp/env/spc/docs/plenary3/PS3-F-Veolia_Hierso-Print%20abstract.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

CHANEY, R. L.; REEVES, P. G.; RYAN, J. A.; SIMMONS, R. W.; WELCH, R. M.; ANGLE, J. S. An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods to remediate soil Cd risks. **BioMetals**, v. 17, p. 549-553, 2004.

CHANG, A. C.; PAGE, A. L. Trace elements slowly accumulating, depleting in soils. **California Agriculture**, v. 54, p. 49-55, 2000.

CONCAS, A.; ARDAU, C.; CRISTINI, A.; ZUDDAS, P.; CAO, G. Mobility of heavy metals from tailings to stream waters in a mining activity contaminated site. **Chemosphere**, v. 63, p. 244-253, 2006.

DACH, J.; STARMANS, D. Heavy metals balance in Polish and Dutch agronomy: Actual state and previsions for the future. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.107, p. 309-316, 2005.

DEL QUIQUI, E. M.; MARTINS, S. S.; SHIMIZU, J. Y. *Eucalyptus* para o Noroeste do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 1173-1177, 2001.

EBBS, S. D.; KOCHIAN, L. V. Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). *Environmental Science & Technology*, v. 32, p. 802-806, 1998.

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARWOOD, C.; VAN WYK, G. ***Eucalypt domestication and breeding***. Oxford: Clarendon Press, 1993. 312 p.

EL-GHAMERY, A. A.; EL-KHOLY, M. A.; ABOU EL-YOUSER, M. A. Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. **Mutation Research**, v. 537, p. 29-41, 2003.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997, 212 p.

ENTRY, J. A.; EMMINGHAM, W. H. Sequestration of Cs¹³⁷ and Sr⁹⁰ from soil by seedlings of *Eucalyptus tereticornis*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 25, p. 1044-1047. 1995.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **Introduction to Phytoremediation**. Cincinnati, OH: National Risk Management Research Laboratory / Office of Research and Development/ Environmental Protection Agency. 2000. 105 p. Disponível em: <<http://www.epa.gov>>. Acesso em: 14 out. 2012.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **The Use of Soil Amendments for Remediation, Revitalization and Reuse**. Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency, 2007. Disponível em: <<http://www.clu-in.org/download/remed/epa-542-r-07-013.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2012.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **Use of Field-Scale Phytotechnology for Chlorinated Solvents, Metals, Explosives and Propellants, and Pesticides**. Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency. 2005. 14 p. Disponível em: <<http://www.cluin.org/download/remed/542-r-05-002.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v. 6, p. 36-41. 2008.

FREDDO, A.; FOELKEL, C. E. B.; FRIZZO, S. M. B.; SILVA, M. C. M. Elementos minerais em madeiras de eucaliptos e acácia negra e sua influência na indústria de celulose kraft branqueada. **Ciência Florestal**, v. 9, p. 193-209, 1999.

GARCÍA, G.; FAZ, Á.; CUNHA, M. Performance of *Piptatherum miliaceum* (Smilo grass) in edaphic Pb and Zn phytoremediation over a short growth period. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 54, p. 245-250. 2004.

GICHNER, T.; PATKOVÁ, Z.; SZÁKOVÁ, J.; DEMNEROVA, K. Toxicity and DNA damage in tobacco and potato plants growing on soil polluted with heavy metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, p. 420-426, 2006.

GRAMATYKA, P.; NOWOSIELSKI, R.; SAKIEWICZ, P. Recycling of waste electrical and electronic equipment. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v. 20, p. 535-538, 2007.

GRAZIA, C. A.; PESTANA, M. H. D. Mercúrio antrópico e outros elementos em drenagens associadas às minerações auríferas de lavras do sul. Porto Alegre: PGAGEM, CPRM/FEPAM. 2008. 62 p.

GRAZZIOTTI, P. H. **Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acácia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados**. 1999. 177 p. (Tese de Doutorado) – Universidade Federal de Lavras. Lavras - MG, 1999.

GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso e metais pesados. In: CURI, R. F.; MARQUES, J. J.; GUILHERME, L. R. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S.; ALVARES V., V. H. (Eds). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 3, p. 55-105, 2003.

HABITAT, UN - United Nations Human Settlements Programme. **Global atlas of excreta, wastewater sludge, and biosolids management: moving forward the sustainable and welcome uses of a global resource**. 2008. 632 p. Disponível em: <http://esa.un.org/iys/docs/san_lib_docs/habitat2008.pdf>. Acesso em: 06 out. 2012.

HASSE, G. **Eucalipto: Histórias de um imigrante vegetal**. Porto Alegre: JÁ Editores 2006. 127 p.

HOODA, P. S. **Trace Elements in Soils**. Ed. 1. United Kingdom: Wiley-Blackwell. 2010. 616 p.

ISWA - The International Solid Waste Association. **Globalisation and Waste Management: Phase 1 concepts and facts**. 2012. Disponível em: <http://www.iswa.org/en/79/the_international_solid_waste_association.html>. Acesso em: 20 set. 2012.

ITRC - Interstate Technology & Regulatory Council. **Emerging technologies for the remediation of metals in soils - Phytoremediation**. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update. 1997. Disponível em: <www.itrcweb.org>. Acesso em: 05 out. 2012.

ITRC - Interstate Technology & Regulatory Council. **Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised. PHYTO-3**. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update. 2009. Disponível em: <www.itrcweb.org>. Acesso em: 06 out. 2012.

JOHNSON, I. G.; ARNOLD, R. J. ***Eucalyptus dunnii* provenance-family trials in Northern New South Wales-Age three-year assessment**. West Pennant Hills, Austrália: Research and Development Division State Forests of New South Wales Sydney. 2000. 36p. (Research Paper No. 37).

JORGE, L. A. C.; SILVA, D. J. C. B. **AFSoft**: manual de utilização. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 20 p. Disponível em: <<http://www.cnpdia.embrapa.br/labimagem/afsoft.php>>. Acesso em: 20 Set. 2012.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. Ed 4. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2010. 548 p.

KALIŠOVÁ-ŠPIROCHOVÁ, I.; PUNCOCHÁROVÁ, J.; KAFKA, Z.; KUBAL, M.; SOUDEK, P.; VANEK, T. Accumulation of heavy metals by in vitro cultures of plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 3, p. 269-276, 2003.

KOS, B.; GRČMAN, H.; LEŠTAN, D. Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. **Plant Soil Environment**, v. 49, p. 548-553, 2003.

LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. **Mycorrhiza**, v.7, p. 139-153, 1997.

LINCOLN, J. D.; OGUNSEITAN, O. A.; SHAPIRO, A. A.; SAPHORES, J. D. M. Leaching assessments of hazardous materials in cellular telephones. **Environmental Science & Technology**, v. 41, p. 2572-2578, 2007.

LI, Q.; GUO, X.; XU, X.; ZUO, Y.; WEI, D.; MA, Y. Phytoavailability of copper, zinc and cadmium in sewage sludge-amended calcareous soils. **Pedosphere**, v. 22, p. 254-262, 2012.

LUXRESEARCH. **Technologies turn waste to profit. 2009**. 11 p. Disponível em: <[http://luxresearch.web8.hubspot.com/Portals/86611/docs/research%20downloads/lux_research_technologies_turn_waste_to_profit\[1\].pdf](http://luxresearch.web8.hubspot.com/Portals/86611/docs/research%20downloads/lux_research_technologies_turn_waste_to_profit[1].pdf)>. Acesso em: 12 Nov. 2012.

MAGALHÃES, M. O. L.; SOBRINHO, N. M. B. A.; SANTOS, F. S.; MAZUR, N. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 805-812, 2011.

MORAES, P. P. F.; HORN, A. H. Teores dos metais pesados Cr, Cd E Zn em perfis de solos de veredas da bacia do rio do Formoso, município de Buritizeiro, Minas Gerais. **GEONOMOS**, v. 18, p. 78-85, 2010.

ORO, T. H.; DEL QUIQUI, E. M.; ORO, P. Desempenho inicial de espécies de *Eucalyptus* no Noroeste do Paraná. **Revista Cultivando o Saber**, v.5, p.140-148, 2012.

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 184, p. 105-126, 2007.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T. **Considerações Sobre o Plantio de *Eucalyptus dunnii* no Estado do Paraná**. Colombo, PR: Embrapa Florestas. 2005. 7 p. (Comunicado técnico 141).

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T.; FERREIRA, C. A. **Eucaliptos Indicados para Plantio no Estado do Paraná**. Colombo, PR: Embrapa Florestas. 2006. 45 p. (Documentos 129).

PAVLÍKOVÁ, D.; PAVLÍK, M.; STASZKOVÁ, L.; MOTYK, V.; SZÁKOVÁ, J.; TLUSTOŠA, P.; BALÍKA, J. Glutamate kinase as a potential biomarker of heavy metal stress in plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, p. 223-230, 2008.

PULFORD, I. D.; WATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees, a review. **Environment International**, v. 29, p. 529-540, 2003.

PUNSHON, T.; DICKINSON, N. M.; LEPP, N. W. The potential of *Salix* clones for bioremediating metal polluted soil. In: GLIMMERVEEN, I. (Ed). **Heavy metals and trees: Proceedings of a Discussion Meeting**, Glasgow. Edinburgh: Institute of Chartered Foresters, p. 93-104, 1996.

RAMOS, S.; CASTRO, E. M.; CARMO PINTO, S. I.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, C.; PEREIRA, G. C. Uso do silício na redução da toxidez de zinco em mudas de eucalipto. **Interciencia**, v. 34, p. 189-194. 2009.

RESENDE, A. V. **Micronutrientes na agricultura brasileira: disponibilidade, utilização e perspectivas**. Série Estudos e Documentos, Coletânea Fertilizantes – IX. CETEM / MCT, 2005. 37 p.

RODRÍGUEZ, L.; RUIZ, E.; ALONSO-AZCÁRATE, J.; RINCÓN, J. Heavy metal distribution and chemical speciation in tailings and soils around a Pb – Zn mine in Spain. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 1106-1116, 2009.

SANTANA, R. C.; JÚLIO, N. F. B.; NEVES, C. L. Biomassa e conteúdo de nutrientes de procedências de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* em alguns sítios florestais do Estado de São Paulo. **Scientia Forestalis**, v. 56, p. 155-169, 1999.

SANTOS, G. C. G.; RODELLA, A. A. Efeito da adição de fontes de matéria orgânica como amenizantes do efeito tóxico de B, Zn, Cu, Mn e Pb no cultivo de *Brassica juncea*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 793-804, 2007.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; OLIVEIRA, J. B. de; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p

SCHUMACHER, M. V.; CALDEIRA, M. V. W. Estimativa da biomassa e do conteúdo de nutrientes de um povoamento de *Eucalyptus globulus* (Labillardière) sub-espécie *maidenii*. **Ciência Florestal**, v. 11, p. 45-53, 2001.

SCHWITZGUÉBEL, J. Potential of Phytoremediation, an emerging green technology. In: Ecosystem Service and Sustainable Watershed Management in North China. In: International Conference **Proceedings...**, Beijing - China. p. 5, 2000.

SE NSW PRIVATE FORESTRY. ***Eucalyptus saligna* (Sydney Blue Gum)**. Treescene: Infosheet 16. 2012. Disponível em: <http://thebegavalley.org.au/uploads/media/Sydney_Blue_Gum.pdf>. Acesso em 20 de set. 2012.

SEEFELDT, S. S.; JENSEN, J. E.; FUERST, E. P. Loglogistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, v. 9, n. 2, p. 218-225, 1995.

SHIGAKI, F.; SHARPLEY, A.; PROCHNOW, L. I. Animal-based agriculture, phosphorus management and water quality in Brazil: options for the future. **Scientia Agricola**, v. 63, p. 194-209, 2006.

SILVA, P. H. M.; POGGIANI, F.; STAPE, J. L.; BRITO, J. O.; MOREIRA, R. Produção de óleo essencial e balanço nutricional em *Corymbia citriodora* adubado com lodo de esgoto em diferentes espaçamentos. **Cerne**, v.15, p. 346-354. 2009.

SILVEIRA, M. L. A.; ALLEONI, L. R. F.; GUILHERME, L. R. G. Biosolids and heavy metals in soils. **Scientia Agricola**, v. 60, p. 793-806, 2003.

SINGH, O. V.; LABANA, S.; PANDEY, G.; BUDHIRAJA, R.; JAIN, R. K. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, p. 405-412, 2003.

SOARES, C. R. F. S.; GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G.; MOREIRA, F. M. S. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 339-348, 2001.

SOARES, E. R.; MELLO, J. W. V.; COSTA, L. M.; CORRÊA, M. L. T. Drenagem ácida em materiais provenientes da mineração de carvão, de Candiota-RS. **GEONOMOS**, v. 5, p. 67-72, 1997.

SBCS – Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Comissão de Química e Fertilidade do Solo - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul, 2004. 400 p.

STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I; STEFFEN, G. P.; JACQUES, R. J. S.; SILVA, R. F. Ação do óleo essencial de eucalipto na micorrização e no estabelecimento de *Eucalyptus grandis* em solo contaminado por cobre. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, p. 245-255, 2011.

STREET, R. A.; KULKARNI, M. G.; STIRK, W. A.; SOUTHWAY, C.; VAN STADEN, J. Toxicity of metal elements on germination and seedling growth of widely used medicinal plants belonging to Hyacinthaceae. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 79, p. 371-376, 2007.

STUCZYNSKI, T. I.; SIEBIELEC, G.; DANIELS, W. L.; MCCARTY, G. C.; CHANEY, R. L. Biological aspects of metal waste reclamation with sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, 1154-1162, 2007.

SWEDISH EPA - Swedish Environmental Protection Agency. **Recycling and disposal of electronic waste**. Health hazards and environmental impacts. Stockholm, Sweden. report 6417, 2011.

UNEP. **Harmful substances and hazardous waste**. Division of Technology, Industry and Economics. 2012. Disponível em: <<http://www.unep.org/hazardoussubstances/>>. Acesso em: 20 out. 2012.

UNEP. **Phytoremediation: An Environmentally Sound Technology for Pollution Prevention, Control and Remediation**, November, 2002. Disponível em: <<http://www.unep.or.jp/Ietc/Publications/Freshwater/FMS2/index.asp>>. Acesso em 20 set. 2012.

VILAS BÔAS, O.; MAX, J. C. M.; MELO, A. C. G. Crescimento comparativo de espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia* no município de Marília, SP. **Revista Instituto Florestal**, v. 21, p. 63-72, 2009.

VITAL, M. H. F. Impacto ambiental de florestas de eucalipto. **Revista do BNDES**, v. 14, p. 235-276, 2007.

WHITING, S. N.; REEVES, R. D.; RICHARDS, D.; JOHNSON, M. S.; COOKE, J. A.; MALAISSE, F.; PATON, A.; SMITH, J. A. C.; ANGLE, J. S.; CHANEY, R. L.; GINOCCHIO, R.; JAFFRE, T.; JOHNS, R.; MCINTYRE, T.; PURVIS, O. W.; SALT, D. E.; SCHAT, H.; ZHAO, F. J.; BAKER, A. J. M. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. **Restoration Ecology**, v. 12, p. 106-116, 2004.

4 CAPÍTULO II

INFLUÊNCIA DA ASSOCIAÇÃO ECTOMICORRÍZICA NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*

4.1 Resumo

A associação ectomicorrízica beneficia às plantas ao proporcionar aumento na área de absorção radicular, por meio das hifas fúngicas que absorvem mais nutrientes e água e possibilitam o desenvolvimento do hospedeiro em solos com condições adversas. O eucalipto associa-se simbioticamente com alguns fungos ectomicorrízicos, porém os fungos ectomicorrízicos apresentam especificidade fungo-hospedeiro e a colonização é dependente da ocorrência de interação entre estes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos isolados ectomicorrízicos UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 no crescimento das mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*. O delineamento foi inteiramente casualizado no arranjo fatorial (4 x 4), sendo quatro espécies de eucalipto (*E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*) e quatro inóculos ectomicorrízicos (UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 e sem inoculação), com doze repetições. Após três meses de condução das mudas, foram avaliadas: a altura de planta; diâmetro do colo; número de folhas; percentual de colonização ectomicorrízica; massa seca das folhas, aérea e radicular. Também foram calculadas as relações: massa seca aérea/massa seca radicular e altura/diâmetro do colo e o índice de qualidade de Dickson. A altura de planta, número de folhas e a massa seca aérea apresentaram médias superiores nas espécies *E. dunnii* e *C. citriodora*, por meio da inoculação com UFSC-132. A inoculação com UFSC-Pt116 gerou 63,3% de raízes colonizadas em *C. citriodora* enquanto que *E. dunnii* inoculado com UFSC-121 teve 67,7% de suas raízes colonizadas. Considera-se que o UFSC-132 é promissor na inoculação controlada em *E. dunnii* e *C. citriodora* em viveiro.

Palavras-chave: eucalipto, micorrizas, produção de mudas, simbiose.

4.2 Introdução

Os fungos ectomicorrízicos associam-se tipicamente com espécies florestais, como por exemplo, as Mirtáceas (MACEDO et al., 2003; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006) geralmente

beneficiando as plantas com as quais estão associados por possibilitar seu estabelecimento em solos de baixa fertilidade (XU et al., 2001; MELLO et al., 2009; SOUSA et al., 2012). Nessa situação, os fungos ectomicorrízicos, por meio de suas hifas, aumentam a área de absorção radicular total da planta no solo (MEHARGA e CAIRNEY, 2000; AGARWAL e SAH, 2009) potencializando a absorção de nutrientes e água (SILVA et al., 2003; ANDREAZZA et al., 2004; SMITH e READ, 2008), ciclagem dos nutrientes (CAIRNEY, 2012), também aumentando a tolerância das plantas a metais pesados (GRAZZIOTTI et al., 2003; KABATA-PENDIAS, 2010). No entanto, solos degradados, ou sob longos períodos de cultivo agrícola podem conter pequena quantidade de inóculo destes fungos (BAUMA et al., 2002), sendo necessário que as mudas a serem plantadas já contenham fungos ectomicorrizicos inoculados ainda no viveiro (SILVA et al., 2003; BRUNDRETT et al., 2005). Isso possibilita aumento no crescimento das mudas (PERA e PARLADÉ, 2005; CHENA et al., 2006), maior sobrevivência e melhor desenvolvimento pós plantio no campo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Raízes micorrizadas geralmente apresentam manto fúngico cobrindo a superfície de seus ápices e uma rede de Hartig, situado no córtex intercelular, circundando as células epidérmicas e corticais onde substitui a lamela média possibilitando as trocas nutricionais (BRUNDRETT et al., 1996; RAVEN et al., 2007). Uma série de eventos antecede esta modificação da morfologia radicular, e para que ocorra a associação o hospedeiro deve possibilitar a infecção pelo propágulo fúngico (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; MARTIN, 2009). Os fungos ectomicorrízicos apresentam especificidade quanto ao hospedeiro (SOUSA et al., 2012), e a taxa de colonização é dependente da interação entre o fungo e a planta (GRAZZIOTTI et al., 2003; BRUNDRETT et al., 2005). Assim, as ectomicorrizas podem se associar ou não, dependendo da espécie de planta (CARVALHO e CARPANEZZI, 1982; VOIGT et al., 2000; SILVA et al., 2003; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

O eucalipto tem capacidade de associar-se simbioticamente com alguns fungos ectomicorrízicos (COSTA et al., 2002; MELLO et al., 2006). Várias espécies de eucalipto estão adaptadas às condições de clima do Brasil, e têm sido utilizadas devido ao grande volume de fitomassa que produzem (SCHUMACHER e CALDEIRA, 2001; FREITAS et al., 2004; ALVEZ et al., 2007; VITAL, 2007), ao rápido crescimento (BUOSI e FELFILI, 2004), à pequena exigência nutricional, alta qualidade da madeira para uso na indústria, lenha e carvão e pela facilidade de produção de mudas (MOURA e GUIMARÃES, 2003). Entretanto, a possibilidade de associação micorrízica é variável entre espécies de eucalipto e grupos de fungos (BRUNDRETT et al., 2005).

O plantio de eucalipto inoculado com ectomicorrizas tem sido considerado uma alternativa para restauração florestal de áreas degradadas (SILVA et al., 2003; SOUZA et al., 2007; CAMPOS e ALVES, 2008; MELLO et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2011; STEFFEN et al., 2011). Nesse sentido, a inoculação das mudas ainda no viveiro é uma forma controlada de levar os fungos ectomicorrízicos ao campo, fato, que pode contribuir para o estabelecimento e desenvolvimento das plantas na área de plantio (ANDREAZZA et al., 2004; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006), uma vez que antecipa a simbiose entre fungo e planta, gerando mudas de qualidade (PERA e PARLADÉ, 2005). Entretanto, mesmo com esses benefícios inerentes, muitas mudas de viveiros comerciais ainda carecem de associações ectomicorrízicas (STEFFEN et al., 2010).

Contudo, para que a inoculação seja benéfica, é importante selecionar isolados fúngicos eficientes na simbiose (GRAZZIOTTI et al., 2003; PEREIRA et al., 2005). A eficiência de fungos ectomicorrízicos, é dependente do efeito causado pelas espécies de fungos nas espécies hospedeiras (SILVA et al., 2003). Como os efeitos das micorrizas no crescimento de plantas são dependentes das espécies e dos isolados fúngicos (CABRAL et al., 2010), é importante selecionar isolados de fungos ectomicorrízicos que possibilitem aumento significativo de produtividade (ALVES et al., 2001). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos isolados ectomicorrízicos UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 no crescimento de mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*.

4.3 Material e Métodos

O experimento foi conduzido entre os meses de abril e julho de 2012, na casa de vegetação do viveiro florestal da Universidade Federal de Santa Maria *campus* de Frederico Westphalen – RS, geograficamente localizado à 27° 23' 26" latitude sul, 53° 25' 43" longitude oeste e a 461,30 m de altitude. Foi estabelecido um delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial (4 x 4), sendo quatro espécies de eucalipto (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maid., *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson, *Eucalyptus saligna* Sm. e *Eucalyptus dunnii* Maiden), e quatro tratamentos de inoculação de isolados ectomicorrízicos [(*Pisolithus microcarpus* (Cooke & Masee) Cunn (UFSC-Pt116), *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch (UFSC-132), o isolado UFSC-121 e a testemunha (sem inoculação)], com doze repetições.

Cada unidade experimental foi composta por um tubete plástico de seção circular, com capacidade de 120 cm³, com uma planta cultivada em substrato comercial Tecnomax[®], que

segundo análise química continha $0,03 \text{ mg dm}^{-3}$ de potássio, $0,13 \text{ mg dm}^{-3}$ de fósforo e $0,46 \text{ mg dm}^{-3}$ de nitrogênio disponível. O substrato foi submetido a dois ciclos de autoclavagem ($121 \text{ }^\circ\text{C}$ por 60 minutos), num intervalo de 24 horas. Os tubetes foram previamente desinfetados com solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante 12 horas, e enxaguados a seguir com água. As sementes foram desinfetadas em álcool 70% por 30 segundos e lavadas em água destilada, antecedendo a semeadura.

As sementes das quatro espécies de eucalipto foram obtidas na FEPAGRO FLORESTAS – Centro de Pesquisa em Florestas. A semeadura foi realizada diretamente nos tubetes preenchidos com substrato. Foram semeadas quatro sementes por tubete, e após a emergência procedeu-se o raleio das plântulas, visando à uniformidade das mesmas, que foram cultivadas durante 90 dias sob irrigação diária. A adubação foi realizada semanalmente, com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1951) sem fósforo, pois altos teores podem prejudicar a colonização radicular pelos fungos micorrízicos (SOUZA et al., 2004).

Os isolados foram obtidos do banco de fungos do Laboratório de Biologia do Solo e Microbiologia Professor Marcos Rubens Fries da Universidade Federal de Santa Maria. Tais isolados foram mantidos em placa de Petry com 9 cm de diâmetro contendo 20 ml de meio sólido Melin Norkrans Modificado (MARX, 1969), incubadas em BOD a 28°C com ausência de luz e multiplicados por repicagens sob condições assépticas a cada 30 dias.

Para elaboração do inoculante fúngico, o conteúdo de uma placa de Petry com o meio de cultura completamente coberto pelo micélio fúngico foi fragmentado em liquidificador contendo 200 ml de meio líquido Melin Norkrans Modificado, durante 10 segundos. Na sequência, 2 ml desta suspensão micelial foram inoculados diretamente no substrato por 3 vezes, a cada 10 dias a partir da semeadura (BRUNDRETT et al., 1996). Nos tratamentos, sem fungos foram aplicados apenas 2 ml de meio líquido Melin Norkrans Modificado no substrato por 3 vezes, a cada 10 dias a partir da semeadura.

Aos três meses (90 dias) de cultivo foram avaliadas as seguintes variáveis: percentual de colonização ectomicorrízica; altura de planta; diâmetro de colo; número de folhas; massa seca radicular; massa seca das folhas; massa seca da parte aérea. Além disso, também foram calculados os índices de qualidade de mudas: massa seca aérea/massa seca radicular, altura/diâmetro do colo e índice de qualidade de Dickson. Durante a coleta do experimento, foi realizada a contagem do número de folhas por planta, que foram separadas e colocadas para secar em estufa para a obtenção da massa seca das folhas. O diâmetro do colo foi obtido com paquímetro digital por meio da medida na região do colo da planta, após isso, as plantas foram seccionadas na região do colo. Foi medida a altura de planta com régua graduada,

obtendo-se os valores a partir do colo da planta até o meristema apical, após esta avaliação os caules foram postos para secar em estufa.

As raízes foram separadas do substrato por meio de lavagem com água, sendo retiradas amostras de 0,1 g, com 1 cm de comprimento para a obtenção do percentual de colonização ectomicorrízica, por meio da quantificação do número de raízes colonizadas e não colonizadas, seguindo o método descrito por Brundrett (2008), realizado após o processo de clareamento e coloração conforme procedimento descrito por Grace e Stribley (1991). O restante do sistema radicular foi levado para a secagem em estufa a 60°C até apresentar massa constante. Após a secagem, foram obtidas as massas secas das folhas, dos caules e das raízes, em uma balança analítica. Os valores das massas secas das folhas foram somados a massa seca dos caules, resultando na massa seca aérea das plantas.

A partir dos valores obtidos nas variáveis acima, foram calculados três índices de qualidade de mudas. A relação massa seca aérea/massa seca radicular, que relaciona as partes transpirantes com a absorção de água, devendo ser considerado principalmente para o plantio das mudas, cujo valor recomendado é de 2:1 (BRISSETTE, 1984; CALDEIRA et al., 2008). A relação altura/diâmetro do colo, também denominada de quociente de robustez, fornece informações sobre espessura da haste caulinar e de quanto estiolada está a muda (JOHNSON e CLINE, 1991) e representa o equilíbrio de desenvolvimento das mudas no viveiro. Seus valores devem se situar entre 5,4 e 8,1 em qualquer momento da produção das mudas (CARNEIRO, 1995).

E o índice de qualidade de Dickson, o qual considera os atributos morfológicos que expressam a robustez da muda e o equilíbrio da biomassa das plantas, entre eles a massa seca da parte aérea e a massa seca do sistema radicular, atributos estes dependentes do crescimento das raízes (SILVA et al., 2011). Seu valor mínimo deve ser de 0,20, sendo que, quanto maior for o valor do índice de qualidade de Dickson, melhor será o padrão de qualidade da muda (VIDAL et al., 2006). O índice de qualidade de Dickson foi obtido pela equação proposta por Dickson et al. (1960):

$$IQD = \{MST / [(A/D) + (MSA/MSR)]\}$$

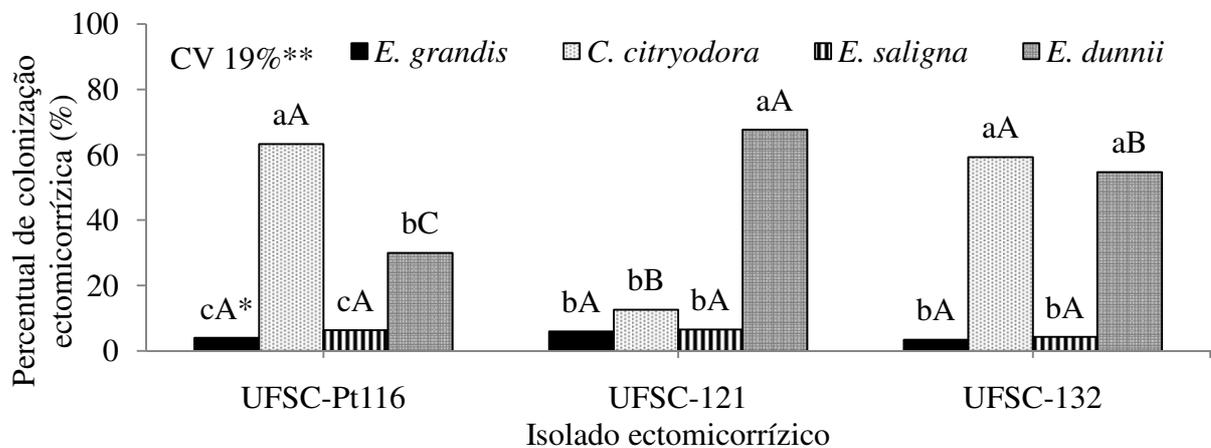
Onde: IQD = índice de qualidade de Dickson; MST = Massa seca total (g); A = altura de plantas (cm); D = diâmetro do colo (mm); MSA = massa seca aérea (g); MSR = massa seca radicular (g).

Os dados foram submetidos à análise da variância pelo Teste F ($p \leq 0,05$) e quando verificadas interações significativas entre os fatores, foram realizados os desdobramentos das

interações entre espécies e doses pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) pelo programa GENES (CRUZ, 2006).

4.4 Resultados e Discussão

As percentagens de colonização radicular dos diferentes isolados de ectomicorrizas nas espécies de eucalipto são apresentadas na figura 1. Observou-se que a espécie *C. citriodora* foi a mais colonizada pelo isolado UFSC-Pt116 e UFSC-132, *E. dunnii* foi mais colonizado com o isolado UFSC-121 e UFSC-132, (Figura 1). *E. grandis*, *C.* e *E. saligna* apresentaram baixa colonização micorrízica para todos os isolados estudados. Fungos ideais para inoculação em grande escala devem colonizar amplamente as raízes e gerar resposta benéfica na planta (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Conforme Grazziotti et al. (2003), deve-se selecionar isolados fúngicos eficientes na simbiose que possibilitem uma interação entre o fungo e a planta.



*As letras minúsculas comparam as espécies de eucalipto dentro de cada isolado ectomicorrízico. As letras maiúsculas comparam os isolados ectomicorrízicos dentro de cada espécie de eucalipto entre os isolados testados. Médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **CV = coeficiente de variação.

Figura 1 - Percentual de colonização ectomicorrízica de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, inoculados com os isolados de fungos ectomicorrízicos, UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 e sem inoculação.

As quatro espécies de eucalipto foram colonizadas pelos fungos inoculados. Entretanto, quando comparados os isolados ectomicorrízicos dentro de cada espécie de eucalipto verifica-se um menor percentual de colonização em *E. grandis* e *E. saligna*, sem diferença significativa entre isolados para cada espécie de eucalipto, enquanto que para *C. citriodora*, foi observado um maior percentual de colonização radicular, especialmente pelos isolados UFSC-Pt116 e UFSC-132 diferindo estatisticamente do isolado UFSC-121 (Figura 1). *E. dunnii* foi significativamente colonizado pelo isolado UFSC-121, diferindo do valor intermediário propiciado pelo UFSC-132 que também apresentou-se superior em relação ao UFSC-Pt116. Este comportamento diferenciado na formação das micorrizas entre espécies de fungos também foi relatado por Brundrett et al. (2005), os quais avaliando a inoculação de mudas de eucalipto em viveiro observaram considerável variação entre os grupos de fungos.

A inoculação do isolado UFSC-Pt116 evidenciou significativamente maior altura no *E. grandis*. As mudas de *E. dunnii* apresentaram a maior altura quando inoculadas com o isolado UFSC-121, não diferindo estatisticamente do *E. saligna*. *E. dunnii* quando inoculado com o UFSC-132, foi significativamente mais alto entre as espécies estudadas (Tabela 1). Sendo que este isolado proporcionou ao *E. dunnii* alcançar o valor de altura mínima recomendado para o plantio a campo (GOMES et al., 2003). Entre as espécies de eucalipto sem a inoculação, as mudas de *E. dunnii* apresentaram a maior altura, seguidas respectivamente pelo *E. grandis*, *E. saligna* e pelo *C. citriodora* que produziu as mudas significativamente mais baixas entre as espécies de eucalipto na ausência de inoculação.

Na comparação dos isolados ectomicorrízicos dentro de cada espécie de eucalipto verifica-se que a inoculação não proporcionou efeito sobre a altura do *E. saligna*. As mudas de *E. grandis* tiveram suas maiores alturas quando inoculadas com UFSC-Pt116 sem diferença significativa para com as mudas sem inoculação e significativamente superior as mudas inoculadas com os isolados UFSC-121 e UFSC-132, que apresentaram baixa taxa de colonização nessa espécie. Em alguns casos a associação não é benéfica, sendo possível a diminuição da taxa de crescimento devido à formação de ectomicorrizas (CONJEAUD et al., 1996; SMITH e READ, 2008). As mudas de *E. dunnii* foram significativamente mais altas quando inoculadas com UFSC-132, sendo que a menor altura foi desenvolvida pelas mudas inoculadas com UFSC-Pt116 sem diferir do UFSC-121. Smith e Read (2008), afirmam que diferentes combinações de plantas e fungos têm diferentes eficiências de crescimento em *Eucalyptus*. O isolado UFSC-132 incrementou significativamente a altura do *C. citriodora*, em detrimento aos outros isolados e a testemunha.

Tabela 1 - Altura de planta, diâmetro de colo, número de folhas, massa seca das folhas, massa seca radicular, massa seca aérea de mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, inoculados com isolados de fungos ectomicorrízicos (UFSC-Pt116, UFSC-121 e UFSC-132) e a testemunha.

Espécie	Testemunha	Isolado ectomicorrízico		
		UFSC-Pt116	UFSC-121	UFSC-132
----- Altura de planta (cm) -----				
<i>E. grandis</i>	15,17 bA*	15,67 aA	11,93 bcB	13,00 bB
<i>C. citriodora</i>	11,37 dB	10,93 cB	11,40 cB	13,33 bA
<i>E. saligna</i>	13,20 cA	13,40 bA	13,57 abA	13,77 bA
<i>E. dunnii</i>	17,67 aB	13,20 bC	14,83 aC	20,07 aA
CV**		5,30%		
----- Diâmetro do colo (mm) -----				
<i>E. grandis</i>	2,02 aA	1,90 aA	1,90 aA	1,98 cA
<i>C. citriodora</i>	2,00 aB	1,61 bC	2,07 aB	2,38 aA
<i>E. saligna</i>	1,72 bB	2,00 aA	1,92 aAB	2,10 bcA
<i>E. dunnii</i>	2,16 aA	2,07 aA	2,10 aA	2,28 abA
CV		6,80%		
----- Número de folhas -----				
<i>E. grandis</i>	13 aA	14 aA	14 bA	15 aA
<i>C. citriodora</i>	11 bB	11 bB	13 bA	13 bA
<i>E. saligna</i>	14 aB	15 aAB	16 aA	15 aAB
<i>E. dunnii</i>	13 aB	12 bB	13 bB	15 aA
CV		6,40%		
----- Massa seca das folhas (g) -----				
<i>E. grandis</i>	0,42 aA	0,38 aA	0,28 aA	0,34 cA
<i>C. citriodora</i>	0,44 aB	0,35 aB	0,32 aB	0,67 aA
<i>E. saligna</i>	0,35 aA	0,27 aA	0,36 aA	0,30 cA
<i>E. dunnii</i>	0,46 aA	0,30 aA	0,40 aA	0,39 bA
CV		15,30%		
----- Massa seca radicular (g) -----				
<i>E. grandis</i>	0,28 bA	0,29 aA	0,26 bA	0,27 abA
<i>C. citriodora</i>	0,34 aA	0,21 bB	0,20 cB	0,32 aA
<i>E. saligna</i>	0,28 bA	0,28 aA	0,27 abA	0,30 aA
<i>E. dunnii</i>	0,26 bB	0,23 abB	0,32 aA	0,23 bB
CV		9,20%		
----- Massa seca aérea (g) -----				
<i>E. grandis</i>	0,61 aA	0,60 aA	0,47 bB	0,55 bAB
<i>C. citriodora</i>	0,66 aB	0,50 abC	0,49 bC	1,00 aA
<i>E. saligna</i>	0,57 aA	0,46 bA	0,54 bA	0,57 bA
<i>E. dunnii</i>	0,69 aB	0,50 abC	0,69 aB	0,87 aA
CV		9,87%		

*Médias seguidas por mesmas letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **CV = coeficiente de variação.

O diâmetro do colo das mudas foi significativamente maior para o *E. grandis*, *C. citriodora* e *E. dunnii* em relação ao *E. saligna*, no tratamento sem inoculação (Tabela 1). A aplicação do isolado UFSC-Pt116 não gerou diferença significativa nas mudas de *E. grandis*, *E. dunnii*, *E. saligna*, porém estas foram superiores ao *C. citriodora*. O isolado UFSC-121 não influenciou significativamente esta variável nas mudas inoculadas. E na inoculação com o isolado UFSC-132, o *C. citriodora* desenvolveu o maior diâmetro do colo entre as espécies de eucalipto, não diferindo do *E. dunnii*. O maior diâmetro do colo é considerado como benéfico (REIS et al., 2008), reduzindo as possibilidades de tombamento das mudas após o plantio. Sendo considerado um bom indicador do padrão de qualidade de mudas (MOREIRA e MOREIRA, 1996).

A inoculação com os diferentes isolados de fungos ectomicorrízicos não proporcionou diferença significativa no diâmetro do colo das mudas de *E. grandis* e *E. dunnii*. O *C. citriodora* teve o diâmetro do colo significativamente maior quando inoculado com o isolado UFSC-132, enquanto que o isolado UFSC-Pt116 proporcionou o crescimento significativo do menor diâmetro do colo para as mudas desta espécie. O diâmetro do colo das mudas de *E. saligna* foi acrescido significativamente pelo UFSC-Pt116 e UFSC-132. O incremento do diâmetro do colo pela inoculação ectomicorrízica é importante, pois maiores diâmetros possibilitam maior sobrevivência das mudas após o plantio (REIS et al., 2008).

O *C. citriodora* emitiu o menor número de folhas entre as espécies de eucalipto sem inoculação e quando inoculado com o isolado UFSC-132, enquanto que as demais espécies não diferiram entre si (Tabela 1). *E. grandis* e *E. saligna* emitiram mais folhas entre as espécies de eucalipto quando inoculados com o isolado UFSC-Pt116. No isolado UFSC-121 o maior número de folhas entre as espécies de eucalipto foi emitido pelo *E. saligna*.

O número de folhas do *E. grandis* não foi alterado pela inoculação com os fungos ectomicorrízicos, enquanto que as mudas de *E. dunnii* emitiram mais folhas quando inoculadas, com UFSC-132, e as mudas de *E. saligna* emitiram maior número de folhas quando inoculadas com os isolados ectomicorrízicos testados. *C. citriodora* apresentou o maior número de folhas quando inoculados com os isolados UFSC-121 e UFSC-132 (Tabela 1). Conforme Smith e Read (2008) o mutualismo pode influenciar diretamente as taxas de assimilação de carbono nas folhas. Isso pode incrementar o número de folhas emitidas pela planta, contudo há variação na resposta da planta conforme o isolado ectomicorrízico utilizado.

Ao comparar as espécies de eucalipto dentro de cada isolado ectomicorrízicos, observa-se maior massa seca das folhas no *C. citriodora*, quando inoculado com o isolado

UFSC-132. Os demais isolados ectomicorrízicos e o tratamento sem inoculação não proporcionaram efeito diferenciado entre as espécies de eucalipto testadas. Na comparação dos isolados ectomicorrízicos dentro de cada espécie, verificou-se que a aplicação dos isolados de fungos ectomicorrízicos não induziu efeito na massa seca das folhas do *E. grandis*, *E. saligna* e *E. dunnii* (Tabela 1). Enquanto que no *C. citriodora* o isolado UFSC-132 aumentou significativamente a massa seca das folhas em relação à testemunha e aos demais isolados. Esse resultado corrobora com os obtidos por Chena et al. (2006), em que mudas de eucalipto inoculadas produziram mais biomassa do que as plantas não inoculadas. Também concorda com Moreira e Siqueira (2006) onde relatam que associações positivas fazem com que mudas inoculadas atinjam benefícios até 160% superiores a mudas não inoculadas. Além disso, o bom desenvolvimento foliar beneficia mutuamente o fungo, possibilitando maior produção de fotoassimilados e assim a manutenção das ectomicorrizas.

Na comparação das espécies de eucalipto dentro de cada isolado ectomicorrízico, *C. citriodora* teve significativamente a maior massa seca radicular quando comparado às outras espécies de eucalipto no tratamento sem inoculação de fungos ectomicorrízicos. A produção de massa seca radicular na inoculação com o isolado UFSC-Pt116 foi significativamente maior no *E. grandis* e *E. saligna*, dos quais *E. dunnii* não se diferenciou. A inoculação com o isolado UFSC-121 possibilitou maior matéria seca radicular no *E. dunnii* sem diferir estatisticamente do *E. saligna* (Tabela 1). *E. dunnii* e *E. grandis* produziram a menor massa seca radicular quando comparado as outras espécies de eucalipto inoculados como isolado UFSC-132.

Ao comparar o efeito dos isolados ectomicorrízicos dentro de cada espécie de eucalipto, observou-se que a massa seca radicular do *E. grandis* e *E. saligna* não foram influenciadas pela inoculação dos isolados testados (Tabela 1). *C. citriodora* teve maior massa seca radicular no tratamento sem inoculação e inoculado com o isolado UFSC-132 e menor massa seca radicular quando inoculado com os isolados UFSC-Pt116 e UFSC-121e o *E. dunnii* apresentou massa maior seca radicular com o isolado UFSC-121. A associação ectomicorrízica modifica a arquitetura das raízes (BRUNDRETT, 1996). As hifas geralmente desempenham o papel dos pelos radiculares (SOUZA et al., 2006), os quais estão ausentes em raízes ectomicorrizadas, além disso estas raízes geralmente são mais curtas e muito ramificadas (RAVEN et al., 2007). É mais eficiente para a planta, com relação ao gasto de energia, possibilitar maior desenvolvimento de hifas, do que produzir raízes (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

Não houve diferença significativa na massa seca aérea entre espécies de eucalipto no tratamento sem inoculação. Quando inoculados com o isolado UFSC-Pt116 o *E. grandis* produziu significativamente a maior massa seca aérea, não diferindo do *E. dunnii* e *C. citriodora*. Na inoculação com o UFSC-121 a massa seca do *E. dunnii*, foi significativamente maior, enquanto que o *C. citriodora* e o *E. dunnii* produziram maior massa seca aérea ao serem inoculados com UFSC-132 (Tabela 1). O comportamento diferenciado causado pelos isolados em plantas do mesmo gênero, está diretamente associado a dependência de resposta fisiológica por parte do hospedeiro em relação ao fungo ectomicorrízico (MARTIN, 2009). Desse modo, as espécies de eucalipto testadas nesse trabalho apresentam variação na produção de massa seca aérea conforme o isolado ectomicorrízico utilizado.

Os isolados não proporcionaram efeito significativo sobre a massa seca aérea do *E. saligna*. A inoculação com o isolado UFSC-132 proporcionou maior massa seca aérea para o *C. citriodora* e *E. dunnii* em relação a testemunha. Enquanto que os isolados UFSC-Pt116 e UFSC-121 reduziram significativamente a massa seca aérea destas espécies, bem como o isolado UFSC-121 reduziu significativamente a massa seca aérea do *E. grandis* (Tabela 1). Conforme Silva et al. (2003) em alguns casos a associação ectomicorrízica pode não proporcionar efeito benéfico ao hospedeiro. Esses autores, não obtiveram efeito positivo na parte aérea de mudas de eucalipto ao inocular um isolado de *Pisolithus* sp.

Os efeitos da inoculação com isolados ectomicorrízicos nos índices de qualidade das mudas das quatro espécies de eucalipto são apresentados na tabela 2. Ao comparar as espécies de eucalipto no tratamento sem inoculação, as mudas que apresentaram maior relação de massa seca aérea/massa seca radicular foram as de *E. dunnii* e *E. grandis*. Nas mudas inoculadas com o isolado UFSC-Pt116, a maior relação foi observada no *C. citriodora*, sem diferença significativa para *E. dunnii* e *E. grandis*. Para as mudas inoculadas com o isolado UFSC-121 a melhor relação foi obtida no *C. citriodora*, entretanto não diferiu estatisticamente do *E. dunnii* e do *E. saligna*. A inoculação com o isolado UFSC-132, proporcionou a maior relação de massa seca aérea/massa seca radicular para o *E. dunnii* e o *C. citriodora*, quando comparadas as espécies *E. grandis* e *E. saligna*, que não diferiram entre si. *E. dunnii* e *C. citriodora*, apresentaram uma razão de 3:1, valor acima do recomendado para esta relação, que é de 2:1 (BRISSETTE, 1984; CALDEIRA et al., 2008), isto revela que estas mudas desenvolveram mais sua parte aérea em detrimento ao sistema radicular.

É importante considerar que o isolado UFSC-132 possibilitou alta colonização radicular no *C. citriodora* e *E. dunnii* (Figura 1), e como comentado anteriormente, isso pode reduzir o desenvolvimento radicular, em detrimento das vantagens possibilitadas pela

presença de hifas dos fungos ectomicorrízicos (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). A relação entre massa seca aérea e radicular refere-se à capacidade de resistência das mudas a adversidades do clima principalmente no momento do plantio, pois alta relação se traduz em maior superfície de transpiração, quando comparada com a superfície de absorção de água (CALDEIRA et al., 2008). Nos plantios de mudas em condições adversas, principalmente alta temperatura e escassez de água, o efeito das ectomicorrizas também pode ser perdido, pois são sensíveis as estas condições (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Seguindo esses conceitos, as mudas de *C. citriodora* e *E. dunnii* inoculadas com UFSC-132, necessitam de atenção em relação as condições de plantio.

Tabela 2 - Relação massa seca aérea/massa seca radicular, altura/diâmetro e índice de qualidade de Dickson, para mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*, inoculados com os isolados de fungos ectomicorrízicos (UFSC-Pt116, UFSC-121 e UFSC-132) e a testemunha.

Espécie	Testemunha	Isolado ectomicorrízico		
		UFSC-Pt116	UFSC-121	UFSC-132
----- Massa seca aérea/massa seca radicular -----				
<i>E. grandis</i>	2,16 abA*	2,12 abA	1,82 bA	2,01 bA
<i>C. citriodora.</i>	1,94 bB	2,46 aB	2,51 aB	3,11 aA
<i>E. saligna</i>	2,05 bA	1,64 bA	2,07 abA	1,93 bA
<i>E. dunnii</i>	2,64 aB	2,14 abB	2,14 abB	3,67 aA
CV**		12,00%		
----- Altura/diâmetro do colo -----				
<i>E. grandis</i>	7,49 aAB	8,27 aA	6,30 abC	6,59 bBC
<i>C. citriodora</i>	5,71 bB	6,81 bA	5,51 bB	5,63 bB
<i>E. saligna</i>	7,70 aA	6,71 bAB	7,08 aAB	6,57 bB
<i>E. dunnii</i>	8,23 aA	6,39 bB	7,05 aB	8,80 aA
CV		7,00%		
----- Índice de qualidade de Dickson -----				
<i>E. grandis</i>	0,09 bA	0,08 aA	0,09 aA	0,09 bA
<i>C. citriodora</i>	0,13 aB	0,07 aC	0,08 aC	0,15 aA
<i>E. saligna</i>	0,09 bA	0,09 aA	0,09 aA	0,10 bA
<i>E. dunnii</i>	0,08 bA	0,08 aA	0,10 aA	0,09 bA
CV		8,26 %		

*Médias seguidas por mesma letra, minúsculas na coluna e maiúscula na linha, dentro de cada variável, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **CV = coeficiente de variação.

O *C. citriodora* apresentou a menor relação altura/diâmetro do colo nos tratamentos sem inoculação e com o isolado UFSC-121, enquanto que o *E. grandis* apresentou maior

relação com o isolado UFSC-Pt116 e o *E. dunnii* com o isolado UFSC-132 (Tabela 2). Os valores da relação de altura/diâmetro das mudas de *E. grandis*, *C. citriodora* e *E. saligna*, situaram-se dentro da faixa recomendada para este índice, que é de 5,4 a 8,1 (CARNEIRO, 1995). As mudas de *E. dunnii* sem inoculação e com o isolado UFSC-132 apresentaram relação acima da faixa máxima. Esse resultado demonstra que as mudas de *E. dunnii* poderiam estar muito finas, isto é, muito desenvolvidas em altura com relação ao desenvolvimento do diâmetro do colo, podendo dificultar o pegamento após plantio a campo das mesmas (JOHNSON e CLINE, 1991). Além disso, mudas que apresentam diâmetro do colo reduzido e maiores alturas são consideradas de qualidade inferior à mudas menores e com maior diâmetro do colo (REIS et al., 2008).

Comparando os isolados ectomicorrízicos dentro de cada espécie, observou-se que apenas o isolado UFSC-Pt116 proporcionou acréscimo significativo na relação altura/diâmetro do colo nas mudas de *C. citriodora* em relação à testemunha (Tabela 2). O *E. saligna* teve a relação altura por diâmetro do colo reduzida com a aplicação dos isolados ectomicorrízicos. O *E. dunnii*, apresentou a maior relação altura/diâmetro do colo quando inoculado com os isolados UFSC-132 sem diferir da testemunha. As mudas de *E. dunnii* sem inoculação e inoculadas com o isolado UFSC-132 apresentaram valores dessa relação acima do recomendado para mudas de boa qualidade para o plantio, que é de 8,1 (CARNEIRO, 1995).

O *C. citriodora* nos tratamentos sem inoculação e inoculado com o isolado UFSC-132 foi significativamente superior às demais espécies de eucalipto no índice de qualidade de Dickson (Tabela 2) e na comparação dos isolados ectomicorrízicos para o *C. citriodora*. Verificou-se que somente a inoculação com o isolado UFSC-132 proporcionou significativamente maior índice de qualidade de Dickson. Nenhuma muda alcançou o valor 0,2 considerado como mínimo para o índice de Dickson (VIDAL et al., 2006). Entretanto, a espécie que mais se aproximou do valor recomendado foi o *C. citriodora* quando inoculado com o isolado UFSC-132. Binotto (2007) também obteve índice de qualidade de Dickson inferior ao recomendado, em mudas de *E. grandis* aos 120 dias de produção. Valores de índice de qualidade de Dickson (IQD) abaixo de 0,2 também foram obtidos por Silva et al. (2012) em mudas de *E. urophylla* x *E. grandis* aos 90 dias após o estaqueamento, e por Gomes et al. (2002), em que as mudas de *E. grandis* com 120 dias de idade, também não alcançaram o valor mínimo de 0,2. Gomes (2001) considera que o valor mínimo de 0,2 para o índice de Dickson somente seria válido para mudas de *E. grandis*, quando estas fossem produzidas em tubetes de 200 e 280 cm³ e com 120 dias de idade.

4.5 Conclusões

As espécies *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* associam-se com fungos ectomicorrízicos em condições controladas de viveiro, mas manifestam diferença no crescimento das mudas condicionadas pela espécie de fungo inoculada.

O isolado ectomicorrízico UFSC-132 proporciona maior crescimento de *E. dunnii* e *C. citriodora* quando inoculado em condições controladas de viveiro.

Os isolados UFSC-Pt116 e UFSC-132 apresentam o maior percentual de colonização radicular no *C. citriodora*.

4.6 Referências Bibliográficas

ABRAF - Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário estatístico da ABRAF 2012, ano base 2011**. Brasília, DF, 2012. 150 p.

AGARWAL, P.; SAH, P. Ecological Importance of Ectomycorrhizae in World Forest Ecosystems. **Nature and Science**, v.7, p.107-116, 2009.

ALVES, A. M. C.; SILVA, J. A. A.; FERREIRA, R. L. C.; BARRETO, L. P. Quantificação da produção de biomassa em clones de eucaliptos com 4,5 anos, no polo gesso do Araripe-PE. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 48, p.161-173, 2007.

ALVES, J. R.; SOUZA, O.; PODLECH, P. A. S.; GIACHINI, A. J.; OLIVEIRA, V. L. Efeito de inoculante ectomicorrízico produzido por fermentação semi-sólida no crescimento de *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 307-313, 2001.

ANDREAZZA, R.; ANTONIOLLI, Z. I.; SILVA, R. F.; LONGHI, S. J. Espécies de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 14, p. 51-59, 2004.

BAUMA, C.; STETTERB, U.; MAKESCHIN, F. Growth response of *Populus trichocarpa* to inoculation by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* in a pot and a field experiment. **Forest Ecology and Management**, v.163, p. 1-8, 2002.

BINOTTO, A. F. **Relação entre variáveis de crescimento e o Índice de Qualidade de Dickson em mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maid e *Pinus elliottii* var. *elliottii* – Engelm.** 2007. 53f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2007.

BRISSETTE, J. C. Summary of discussions about seedling quality. Separata de: Southern Nursery Conferences (1984 : Alexandria, LA). **Proceedings...** New Orleans: USDA. Forest Service. Southern Forest Experiment Station, p.127-128, 1984.

BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK, N. **Working with mycorrhizal in forestry and agriculture**. Canberra: ACIAR, 1996. 400 p.

BRUNDRETT, M. C. **Mycorrhizal Associations: The Web Resource**. 2008. Disponível em: <mycorrhizas.info>. Acesso em: 05 nov. 2012.

BRUNDRETT, M.; MALAJCZUK, N.; MINGQING, G.; DAPING, X.; SNELLING, S.; DELL, B. Nursery inoculation of *Eucalyptus* seedlings in Western Australia and Southern China using spores and mycelial inoculum of diverse ectomycorrhizal fungi from different climatic regions. **Forest Ecology and Management**, v. 209, p. 193-205, 2005.

BUOSI, D.; FELFILI, J. M. Recuperação de áreas contaminadas por pesticidas organoclorados na Cidade de Meninos, município de Duque de Caxias, RJ. **Revista Árvore**, v. 28, p. 465-470, 2004.

CABRAL, L.; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S.; PINTO, J. E. B. P. Retenção de metais pesados em micélio de fungos micorrízicos arbusculares. **Química Nova**, v. 33, p. 25-29, 2010.

CAIRNEY, J. W. G. Extramatrical mycelia of ectomycorrhizal fungi as moderators of carbon dynamics in forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v.47, p. 198-208, 2012.

CALDEIRA, M. V. W.; ROSA, G. N.; FENILLI, T. A. B.; HARBS, R. M. P. Composto orgânico na produção de mudas de aroeira-vermelha. **Scientia Agraria**, v. 9, p. 27-33, 2008.

CAMPOS, F. S.; ALVES, M. C. Uso de lodo de esgoto na reestruturação de solo degradado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1389-1397, 2008.

CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba, UFPR/FUPEF, 1995. 451 p.

CARVALHO, P. E. R.; CARPANEZZI, A. A. Espécies florestais com associações simbióticas, promissoras ou indicadas para plantio no sul do Brasil. In: Seminário sobre Atualidades e Perspectivas Florestais, 7. **Anais...** Curitiba, PR, 1982. 74p.

CHENA, Y. L. C.; KANG, L. H.; DELLA, B. Inoculation of *Eucalyptus urophylla* with spores of *Sclerotinia* in a nursery in south China: Comparison of field soil and potting mix. **Forest Ecology and Management**, v. 222, p. 439-449, 2006.

CONJEAUD, C.; SCHEROMM, P.; MOUSSAIN, D. Effects of phosphorus and ectomycorrhiza on maritime pine seedlings (*Pinus pinaster*). **New Phytologist**, v. 133, p. 345-351, 1996.

COSTA, M. D.; PEREIRA, O. L.; KASUYA, M. C. M.; BORGES, A. C. ECTOMICORRIZAS: A Face Oculta das Florestas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 29, p. 38-46, 2002.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - Estatística Experimental e Matrizes**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, v. 1. 2006. 285 p.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forestry Chronicle**, v. 36, p. 10-13, 1960.

FREITAS, R.; SCHUMACHER, M. V.; CALDEIRA, M. V. W.; SPATHELF, P. Biomassa e conteúdo de nutrientes em povoamento de *Eucalyptus grandis* W. Hill Ex Maiden plantado em solo sujeito à arenização, no município de Alegrete-RS. **Biomassa & Energia**, v. 1, p. 93-104, 2004.

GOMES, J. M. **Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*, produzidas em diferentes tamanhos de tubetes e dosagens de N-P-K.** 164 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2001.

GOMES, J. M.; COUTO, L.; LEITE, H. G.; XAVIER, A.; GARCIA, S. L. R. Crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis* em diferentes tamanhos de tubetes e fertilização N-P-K. **Revista Árvore**, v. 27, p. 113-127, 2003.

GOMES, J. M.; COUTO, L.; LEITE, H. G.; XAVIER, A.; GARCIA, S. L. R. Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 26, p. 655-664, 2002.

GRACE, C.; STRIBLEY, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycological Research**, v. 95, p. 1160-1162, 1991.

GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso e metais pesados. In: CURI, R. F.; MARQUES, J. J.; GUILHERME, L. R. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S.; ALVARES V., V. H. (Eds). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 3, p. 55-105, 2003.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley, CA: University of California, (California Agricultural Experiment Station). Circular, 1951. 347 p. Disponível em: <<http://www.cluin.org/download/remed/542-r-05-002.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2012.

JOHNSON, J. D.; CLINE, P. M. Seedling quality of southern pines. In: DUREYA, M. L.; DOUGHERTY, P. M. (Eds.). **Forest regeneration manual**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.143-162. 1991.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. Ed. 4. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2010. 548 p.

MACEDO, A. C.; KAGEYAMA, P. Y; COSTA, L. G. S. **Produção de Mudas em viveiros florestais: espécies nativas**. Fundação Florestal, 1993. 18 p.

MAGALHÃES, M. O. L.; SOBRINHO, N. M. B. A.; SANTOS, F. S.; MAZUR, N. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, p. 805-812, 2011.

- MARTIN, F. Uwe Nehls. Harnessing ectomycorrhizal genomics for ecological insights. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 508-515, 2009.
- MARX, D. H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, v. 59, p. 153-163, 1969.
- MEHARGA, A. A.; CAIRNEY, J. W. G. Ectomycorrhizas - extending the capabilities of rhizosphere remediation? **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, p. 1475-1484, 2000.
- MELLO, A. H.; ANTONIOLLI, Z. I.; KAMINSKI, J.; SOUZA, E. L.; SCHIRMER, G. K.; MACHADO, R. G.; LUPATINI, M.; JÚNIOR, C. M. Estabelecimento a campo de mudas de *Eucalyptus grandis* micorrizadas com *Pisolithus microcarpus* (UFSC Pt 116) em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 19, p. 149-155, 2009.
- MELLO, A. H.; ANTONIOLLI, Z. I.; KAMINSKI, J.; SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, V. L. Fungos arbusculares e ctomicorrízicos em áreas de eucalipto e de campo nativo em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 3, p. 293-301, 2006.
- MOREIRA, F. M. S.; MOREIRA, F. W. Característica de germinação de 64 espécies de leguminosas florestais nativas da Amazônia, em condições de viveiro. **Acta Amazônica**, v. 26, p. 3-16, 1996.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras - MG: Editora UFLA, 2006. 729 p.
- MOURA, V. P. G.; GUIMARÃES, D. P. **Produção de mudas de *Eucalyptus* para o estabelecimento de plantios florestais**. Brasília - DF: EMBRAPA-CENARGEN. 2003. 9 p. (Comunicado Técnico 85)
- PERA, J.; PARLADÉ, J. Inoculación controlada con hongos ectomicorrízicos en la producción de planta destinada a repoblaciones forestales: estado actual en España, Madrid. **Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales**, v.14, p. 419-433, 2005.
- PEREIRA, O. L.; COSTA, M. D.; BORGES, A. C.; ARAÚJO, E. F.; KASUYA, M. C. M. Compatibility and ectomycorrhiza formation among *Pisolithus isolates* and *Eucalyptus* spp. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 337-344, 2005.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, Rio de Janeiro-RJ: Guanabara, Koogan. 2007. 906 p.
- REIS, E. R.; LÚCIO, A. D. C.; FORTES, F. O.; LOPES, S. J.; SILVEIRA, B. D. Período de permanência de mudas de *Eucalyptus grandis* em viveiro baseado em parâmetros morfológicos. **Revista Árvore**, v. 32, p. 809-814, 2008.
- SCHUMACHER, M. V.; CALDEIRA, M. V. W. Estimativa da biomassa e do conteúdo de nutrientes de um povoamento de *Eucalyptus globulus* (Labillardière) sub-espécie *maidenii*. **Ciência Florestal**, v. 11, p. 45-53. 2001.

SILVA, R. B. G.; SIMÕES, D.; SILVA, M. R. Qualidade de mudas clonais de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* em função do substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, p.297-302, 2012.

SILVA, R. F.; SAIDELLES, F. L. F.; SILVA, A. S. BOLZAN, J. S. Influência da contaminação do solo por cobre no crescimento e qualidade de mudas de açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Mart. & Zucc.) e aroeira-vermelha (*Schinus therebinthifolius* Raddi). **Ciência Florestal**, v. 21, p. 111-118, 2011.

SILVA, R. F.; ANTONIOLLI, Z. I.; ANDREAZZA, R. Efeito da inoculação com fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 13, p. 33-42, 2003.

SMITH, S. E.; READ, D. **Mycorrhizal Symbiosis**. Ed. 3., London: Elsevier, Academic Press. 2008. 800 p.

SOUSA, N. R.; FRANCO, A. R.; OLIVEIRA, R. S.; CASTRO, P. M. L. Ectomycorrhizal fungi as an alternative to the use of chemical fertilisers in nursery production of *Pinus pinaster*. **Journal of Environmental Management**, v. 95, p. 269-274, 2012.

SOUZA, L. A. B.; FILHO, G. N. S.; OLIVEIRA, V. L. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção do crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 349-355, 2004.

SOUZA, P. B.; MARTINS, S. V.; COSTALONGA, S. R.; COSTA, G. O. Florística e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea do sub-bosque de um povoamento de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden em Viçosa, MG, Brasil. **Revista Árvore**, v. 31, p.533-543, 2007.

SOUZA, V. C.; SILVA, R. A.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, p. 612-618, 2006.

STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; STEFFEN, G. P. K.; ECKHARDT, D. P. Micorrização das mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden comercializadas no município de Santa Maria, RS. **Ciência e Natura**, v. 32, p. 25-35, 2010.

STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; STEFFEN, G. P.; JACQUES, R. J. S.; SILVA, R. F. Ação do óleo essencial de eucalipto na micorrização e no estabelecimento de *Eucalyptus grandis* em solo contaminado por cobre. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, p. 245-255, 2011.

VIDAL, L. H. I.; SOUZA, J. R. P.; FONSECA, E. P.; BORDIN, I. Qualidade de mudas de guaco produzidas por estaquia em casca de arroz carbonizada com vermicomposto. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 26-30, 2006.

VITAL, M. H. F. Impacto Ambiental de Florestas de Eucalipto. **Revista do BNDES**, v. 14, p. 235-276, 2007.

VOIGT, E. L.; OLIVEIRA, V. L.; RANDI, A. M. Mycorrhizal colonization and phenolic compounds accumulation on roots of *Eucalyptus dunnii* maiden inoculated with ectomycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p.1905-1910, 2000.

XU, D.; DELL, B.; MALAJCZUK, N.; GONG, M. Effects of P fertilization and ectomycorrhizal fungal inoculation on early growth of eucalypt plantations in southern China. **Plant and Soil**, v. 233, p. 47-57, 2001.

5 CAPÍTULO III

CRESCIMENTO DE MUDAS DE *Corymbia citriodora* INOCULADO COM *Pisolithus microcarpus* EM SOLO CONTAMINADO COM ZINCO

5.1 Resumo

O uso de árvores associadas a microrganismos é uma nova prática da fitorremediação de solos contaminados por metais pesados, considerada de baixo custo e ambientalmente correta. Sabe-se que as ectomicorrizas possibilitam melhores condições a seus hospedeiros para sobreviverem em condições adversas. Entretanto, ainda há carência de estudos sobre espécies passíveis de se desenvolverem em solos contaminados por Zinco. O trabalho objetivou avaliar o crescimento do *C. citriodora* e o efeito da inoculação com *Pisolithus microcarpus* em solo contaminado com Zn. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (2 x 6), sendo duas formas de inoculação (com e sem inoculação) e seis doses de Zn (0, 300, 600, 900, 1200 e 1500 mg kg⁻¹ de solo), com seis repetições. As mudas foram inoculadas e cultivadas durante 90 dias em viveiro e após 67 dias do transplante definitivo para solo contaminado com Zn, foi avaliado o percentual de colonização ectomicorrízica a altura de planta, diâmetro do colo, número de folhas, índice de clorofila total, volume radicular, massa seca das folhas, da haste caulinar, radicular e total, relação massa seca aérea/massa seca radicular e a relação altura/diâmetro do colo. A adição de 1500 mg kg⁻¹ de Zn no solo com 81% de argila, não afeta o crescimento de *C. citriodora* aos 67 dias após transplante. O percentual de colonização ectomicorrízica em *C. citriodora* é estimulado pelo acréscimo de até 1.412,21mg kg⁻¹ de Zn no solo. A inoculação com *Pisolithus microcarpus* favorece a relação massa seca aérea/massa seca radicular de *C. citriodora*.

Palavras-chave: metal pesado, eucalipto, fitorremediação, tolerância.

5.2 Introdução

As atividades de mineração de Zn, refino do minério e sua industrialização, aumentam o teor desse elemento no solo nas proximidades das indústrias e nos locais de deposição de rejeitos (BROWN et al., 2003; GRAZZIOTTI et al., 2003; CHANEY et al., 2004; BORGES Jr. et al., 2008; SWEDISH-EPA, 2011). O acúmulo deste elemento químico no solo também

ocorre em situações em que haja descartes ou quando aplicações de produtos que contenham Zn, como por exemplo, resíduos de equipamentos eletrônicos (GRAMATYKA et al., 2007; LINCOLN et al., 2007), dejetos de suínos (CHANG e PAGE, 2000; DACH e STARMANS, 2005; HOODA, 2010), lodo de esgoto e biossólidos (STUCZYNSKI et al., 2007; KABATA-PENDIAS, 2010), lubrificantes, pesticidas, baterias e fertilizantes fosfatados (HOODA, 2010; KABATA-PENDIAS, 2010), são realizados de forma inadequada ou em excesso, podendo elevar o teor deste elemento no solo acima dos valores considerados seguros pelos órgãos ambientais. Para solo contaminado com Zn, a Cetesb (2005) indica como valor de referência para intervenção quando o solo apresentar teores de Zn acima de 450 mg kg^{-1} de peso seco em áreas agrícolas, 1.000 mg kg^{-1} de peso seco em áreas residenciais, e acima de 2.000 mg kg^{-1} de peso seco para áreas industriais.

A recuperação de áreas utilizando métodos de revegetação tem efeito permanente e baixo custo de manutenção (GRAZZIOTTI et al., 2003). Nesse sentido, a fitorremediação utiliza plantas e sua microbiota associada que toleram as concentrações do metal presente (ITRC, 1997; WHITING et al., 2004) e, recentemente, tem-se dado importância para o uso de árvores por produzirem maior fitomassa e acumulam maior quantidade de metais (EBBS e KOCHIAN, 1998; EPA, 2000; GRAZZIOTTI et al., 2003; GARCÍA et al., 2004). Para isso, é importante que as plantas apresentem rápida taxa de crescimento (PUNSHON et al., 1996) e valor econômico (PUNSHON et al., 1996; KOS et al., 2003). A madeira é uma forma de imobilizar metais por longos períodos se não for utilizada para combustão (PULFORD e WATSON, 2003).

O eucalipto produz um grande volume de madeira (SCHUMACHER e CALDEIRA, 2001; ALVEZ et al., 2007; VITAL, 2007), e foi utilizado em 75% das áreas de florestas plantadas no Brasil até 2011 (ABRAF, 2012). *C. citriodora* é uma espécie de eucalipto originária da Austrália, no estado de Queensland (SMITH et al., 2007), e é utilizado no Brasil geralmente para produção de madeira (VILAS BÔAS et al., 2009) e óleo essencial (SILVA et al., 2009). Além disso, o eucalipto tem capacidade de associar-se simbioticamente com alguns fungos ectomicorrízicos (COSTA et al., 2002; MELLO et al., 2006).

As ectomicorrizas podem favorecer o crescimento das plantas hospedeiras em solos contaminados por metais pesados (GRAZZIOTTI et al., 2003). As ectomicorrizas tornam as plantas micorrizadas mais tolerantes aos estresses causados pelas concentrações de metais pesados por meio da redução da exposição aos metais devido a excreção de substâncias quelantes, imobilização extracelular pela mucilagem, alterações do pH, modificação no sistema de absorção e destoxificação intracelular nos tecidos fúngicos (KABATA-PENDIAS,

2010). O uso de mudas inoculadas com fungos ectomicorrízicos ainda no viveiro possibilita o controle da presença do fungo nas plantas e efetividade do fungo na associação, o que contribui para o estabelecimento e desenvolvimento de plantas na área de plantio (ANDREAZZA et al., 2004; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Nesse sentido, é possível que a associação ectomicorrízica possa contribuir para o desenvolvimento do eucalipto em solo contaminado por Zn.

A fitorremediação ainda carece de resultados científicos (PADMAVATHIAMMA e LI, 2007). Nesse caso, tem sido relatado o uso de eucalipto em experimentos e projetos de fitorremediação (ENTRY e EMMINGHAM, 1995; EPA, 2005; ITRC, 2009; MAGALHÃES et al., 2011). Entretanto, são poucos os testes de desenvolvimento de suas mudas em solo contaminado com Zn (ACCIOLY et al., 2004; RAMOS et al., 2009) e pouco se conhece especificamente sobre o comportamento da espécie *C. citriodora* e o efeito de ectomicorrizas em altas concentrações de Zn no solo. Assim este trabalho objetivou avaliar o crescimento de mudas de *C. citriodora* e o efeito da inoculação com *Pisolithus microcarpus* em solo contaminado com Zn.

5.3 Material e Métodos

O experimento foi conduzido entre os dias 25 de agosto e 29 de outubro de 2012, em casa de vegetação, do viveiro florestal, da Universidade Federal de Santa Maria, *campus* de Frederico Westphalen – RS, geograficamente localizado à 27° 23' 26" latitude sul, 53° 25' 43" longitude oeste e a 461,3 m de altitude. A espécie de eucalipto testada foi a *C. citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson. As sementes obtidas na FEPAGRO FLORESTAS – Centro de Pesquisa em Florestas, foram desinfetadas em álcool 70% por 30 segundos e lavadas em água destilada, antecedendo a semeadura. As mudas de eucalipto foram inicialmente produzidas em tubete plástico de seção circular, com capacidade de 120 cm³, contendo substrato comercial Tecnomax[®]. O substrato foi submetido a dois ciclos de autoclavagem (121 °C por 60 minutos) em intervalo de 24 horas. Os tubetes foram previamente desinfetados com solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante 12 horas, e enxaguados com água destilada.

O isolado ectomicorrízico utilizado foi o UFSC-Pt116 - *Pisolithus microcarpus* (Cooke & Masee) Cunn., obtido do banco de fungos do Laboratório de Microbiologia do Solo Dr. Marcos Rubens Fries da Universidade Federal de Santa Maria. O isolado foi mantido em placa de Petry contendo 20 ml de meio sólido Melin Norkrans Modificado (MARX,

1969), incubado em BOD a 28°C com ausência de luz e multiplicado, por repicagem sob condições assépticas a cada 30 dias. O conteúdo de uma placa de Petry com meio de cultura coberto pelo micélio fúngico foi fragmentado em liquidificador contendo 200 ml de meio líquido Melin Norkrans Modificado, durante 10 segundos. Posteriormente, 2 ml dessa suspensão micelial foi inoculada diretamente no substrato comercial, por três vezes, em intervalos de 10 dias, a partir da semeadura do eucalipto, seguindo a metodologia adaptada de Brundrett et al. (1996). Nos tratamentos sem fungo foi adicionado apenas 2 ml da solução contendo 200 ml de meio líquido Melin Norkrans Modificado. Nos tratamentos, sem fungos foram aplicados no substrato, apenas 2 ml de meio líquido Melin Norkrans Modificado por 3 vezes, a cada 10 dias a partir da semeadura.

Foram semeadas quatro sementes por tubete e, após emergência das plântulas, procedeu-se o raleio visando à uniformidade das mesmas, que foram cultivadas por noventa dias sob irrigação diária. A adubação foi realizada semanalmente, com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1951) sem fósforo, pois elevados teores desse nutriente podem prejudicar o estabelecimento da micorriza (SOUZA et al., 2004).

Aos três meses de cultivo selecionaram-se as mudas do substrato comercial que apresentavam 15 cm de altura, média de 12 folhas e 1,5 mm de diâmetro de colo, as quais foram transplantadas para vasos de plástico rígido e escuro com capacidade de 1 litro, contendo solo classificado como Latossolo Vermelho (SANTOS et al., 2006), cuja análise química é apresentada na tabela 1.

Tabela 1 - Características químicas do solo estudado.

pH _{água}	Ca+Mg	Al	H+Al	P	K	Zn	MO	Argila
1:1	----- Cmol _c L ⁻¹ -----		-----	----- mg dm ⁻³ -----		-----	----- % -----	
4,9	5,4	6,6	4,3	6,6	111,0	1,6	2,4	81,0

A adubação de base e de cobertura foi conforme as recomendações da SBCS (2004) para a cultura do eucalipto. As fontes de nutrientes aplicadas foram cloreto de potássio (K) e uréia (N). Para estabilização do pH do solo em 5,5 foi aplicada uma mistura de carbonato de cálcio (CaCO₃) com carbonato de magnésio (MgSO₃) na relação molar 3:1. Aguardou-se um período de 50 dias para ocorrer a estabilização e o efeito da calagem. A partir daí, o solo foi

submetido a dois ciclos de autoclavagem (121 °C por 60 minutos) num intervalo de 24 horas, recebendo as referidas doses de Zn e então conduzido para o enchimento dos vasos plásticos.

Foi estabelecido um delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (2 x 6), sendo os tratamentos do fator A (com e sem inoculação ectomicorrízica), e os tratamentos do fator D, seis doses de zinco (0, 300, 600, 900, 1200 e 1500 mg kg⁻¹ de solo), com seis repetições. A unidade experimental foi composta por um vaso plástico contendo 1 kg de solo e uma muda da espécie florestal em estudo.

Após 67 dias de cultivo em casa de vegetação foram avaliadas a altura de planta, diâmetro do colo, número de folhas, índice de clorofila total, volume de radicular, massa seca das folhas, da aste caulinar e radicular, percentual de colonização ectomicorrízica e calculadas a massa seca total, a relação massa seca aérea/massa seca radicular e a relação altura/diâmetro do colo. Durante a coleta de dados, foi realizada a contagem do número de folhas por planta, que foram separadas e colocadas para secar em estufa para a obtenção da massa seca das folhas. O diâmetro do colo foi obtido com paquímetro digital por meio da medida na região do colo da planta, sendo então seccionadas para posterior medição da altura com régua graduada, obtendo-se tais valores a partir do colo da planta até o meristema apical. Após o material vegetal foi posto para secar em estufa.

As raízes foram separadas do solo por meio de lavagem com água. O volume radicular foi obtido pelo método de deslocamento de água em proveta, adaptado da metodologia utilizada em solo pela Embrapa (1997). Foram retiradas amostras de 0,1 g, com 1 cm de comprimento do sistema radicular, para a obtenção do percentual de colonização ectomicorrízica, por meio da quantificação do número de raízes colonizadas e não colonizadas, seguindo o método descrito por Brundrett (2008), após o processo de clareamento e coloração conforme procedimento descrito por Grace e Stribley (1991). As raízes foram levadas para a secagem em estufa a 60°C até apresentar massa constante. Após a secagem, foram obtidas as massas secas das folhas, dos caules e das raízes, por meio de balança analítica. Os valores das massas secas das folhas foram somados a massa seca dos caules, resultando na massa seca aérea das plantas.

A partir dos valores obtidos nas variáveis acima, foram calculados a relação massa seca aérea/massa seca radicular, que relaciona as partes transpirantes com as absorptivas de água, cujo valor recomendado é de 2:1 (BRISSETTE, 1984; CALDEIRA et al., 2008). A relação altura/diâmetro do colo, também denominada de quociente de robustez, fornece informações sobre a espessura da aste caulinar e de quanto estiolada está a planta (JOHNSON

e CLINE, 1991) e representa o equilíbrio de desenvolvimento das plantas, e seus valores devem se situar entre 5,4 e 8,1 (CARNEIRO, 1995).

O índice de clorofila total foi medido na quarta folha (folha totalmente desenvolvida) a partir do meristema, por meio do equipamento portátil clorofiLOG CFL1030 (FALKER, 2009). Para obter informações sobre a disponibilidade do Zn aplicado no solo ao longo do cultivo (antes do plantio das mudas, e após a colheita das plantas ao fim da condução do experimento), foi coletada uma amostra de cada tratamento e realizada a quantificação do Zn disponível no solo (Tabela 2), conforme metodologia de Tedesco et al. (1995).

Tabela 2 - Valores de Zn disponível no solo antes e após a coleta do *C. citriodora*, com, ou sem inoculação ectomicorrízica.

Doses de Zn (mg kg ⁻¹)	Zn disponível no solo (mg kg ⁻¹)		
	Antes do plantio	Após coleta	
		Sem ectomicorriza	Com ectomicorriza
0	2,99	4,43	4,54
300	288,45	256,18	258,10
600	449,94	361,91	370,76
900	495,26	439,17	468,11
1.200	568,34	529,59	578,86
1.500	597,40	606,85	621,68

Os dados referentes às variáveis avaliadas foram submetidos à análise da variância pelo Teste F ($p \leq 0,05$). Para as variáveis em que a análise da variância indicou interação significativa, no fator inoculação (qualitativo A), as médias foram comparadas dentro de cada dose pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, e para o fator dose (quantitativo D), as médias foram ajustadas por equações de regressão dentro de cada inoculação, por meio da análise de regressão polinomial, tendo-se como base os níveis de significância maiores que 95% ($p \leq 0,05$). Para as variáveis que não apresentaram significância para interação no Teste F ($p \leq 0,05$), desmembraram-se os efeitos simples. O procedimento estatístico foi realizado no programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

5.4 Resultados e Discussão

As variáveis altura de planta, diâmetro do colo, número de folhas, massa seca das folhas, massa seca da aste caulinar, massa seca radicular, massa seca total e a relação altura/diâmetro do colo não apresentaram significância para a interação fatorial e nem para os efeitos simples dos tratamentos inoculação e doses de Zn (Tabela 3 e 4). A adição de até 1.500 mg kg⁻¹ de Zn não afetou estas variáveis, o que pode estar relacionado à possível tolerância de *C. citriodora* ao Zn e Cd presentes no solo, indicando que esta espécie faça uso de algum mecanismo de destoxificação dos metais, conforme relatado por Grazzioti (1999).

O eucalipto associa-se simbioticamente com fungos ectomicorrízicos (COSTA et al., 2002; MELLO et al., 2006), e estes apresentam mecanismos para destoxificação de metais pesados quando o solo apresenta excesso, protegendo o hospedeiro da toxidez causada pelo metal (BLAUDEZ et al., 2000; COURBOT et al., 2004; BELLION et al., 2006). Contudo, como a espécie *C. citriodora* não foi afetada pelas doses de Zn aplicadas ao solo, não foi possível evidenciar o efeito protetor da ectomicorriza inoculada em relação às altas doses de Zn, bem como o efeito conhecido das ectomicorrizas, de aumentar as taxas de crescimento de *Eucalyptus* spp. quando cultivado em níveis sub-ótimos de fertilidade do solo (BOUGHER et al., 1990). Para Smith e Read (2008), solos férteis limitam a expressão dos efeitos benéficos das ectomicorrizas ao seu hospedeiro.

O índice de clorofila total apresentou interação significativa ($p \leq 0,05$) entre o tratamento de inoculação com as crescentes doses de Zn aplicadas no solo onde foi transplantado *C. citriodora* (Tabela 3). Mas apenas na testemunha (sem adição de Zn ao solo) foi observada diferença significativa. Nesta situação as plantas inoculadas apresentaram maior ($p \leq 0,05$) índice de clorofila total (Figura 1A) em relação às plantas sem inoculação na dose zero de Zn (Figura 1B). Plantas com ectomicorrizas absorvem mais nitrogênio que plantas sem esse tipo de associação (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; SMITH e READ, 2008). O nitrogênio tem efeito sobre a síntese de clorofila (LIMA et al., 2001), podendo ter favorecido a obtenção de maior índice de clorofila total nas plantas inoculadas. Inclusive nas plantas cultivadas no solo sem Zn, onde a ectomicorriza pode ter possibilitado a absorção de nutrientes de baixa disponibilidade, e assim mantido uma nutrição adequada da planta (KABATA-PENDIAS, 2010; SOUSA et al., 2012). Fungos ectomicorrízicos exsudam ácidos orgânicos no solo, que pela redução do pH solubilizam os minerais complexados no solo, aumentando a possibilidade de absorção de fósforo, cálcio, magnésio, etc., para as plantas (GONZALEZ et al., 2009).

Tabela 3 - Altura de planta, diâmetro do colo, número de folhas, índice de clorofila total, massa seca das folhas, volume radicular, massa seca radicular, massa seca da aste caulinar e massa seca total de *C. citriodora*, inoculado com o isolado de fungo ectomicorrízico, UFSC - Pt116, e sem inoculação, cultivado em solo contaminado com doses crescentes de Zn.

Tratamentos	Doses Zn (mg kg ⁻¹)					
	0	300	600	900	1.200	1.500
----- Altura de planta (cm) -----						
Inoculado	32,84 ns*	30,68 ns	30,16 ns	29,50 ns	30,00 ns	31,50 ns
Sem inoculação	31,70 ns	29,00 ns	30,00 ns	29,80 ns	29,50 ns	27,98 ns
CV**	11,9%					
----- Diâmetro do colo (mm) -----						
Inoculado	3,59 ns	3,67 ns	3,91 ns	3,72 ns	3,80 ns	3,70 ns
Sem inoculação	4,24 ns	3,46 ns	3,60 ns	3,52 ns	4,00 ns	3,90 ns
CV	24,3%					
----- Número de folhas -----						
Inoculado	25 ns	27 ns	26 ns	27 ns	25 ns	25 ns
Sem inoculação	25 ns	25 ns	25 ns	25 ns	24 ns	25 ns
CV	15%					
----- Índice de clorofila total -----						
Inoculado	38,37 aA	40,10 aA	37,27 aA	39,53 aA	38,10 aA	38,87 aA
Sem inoculação	24,23 bB	41,30 aA	41,50 aA	42,43 aA	41,83 aA	40,03 aA
CV	6,6 %					
----- Massa seca das folhas (g) -----						
Inoculado	2,02 ns	2,31 ns	2,37 ns	2,30 ns	1,79 ns	2,09 ns
Sem inoculação	2,06 ns	2,18 ns	2,06 ns	2,00 ns	2,10 ns	2,13 ns
CV	26,8%					
----- Volume radicular (cm ³) -----						
Inoculado	7,83 aAB	8,00 aAB	10,16 aA	8,17 aAB	8,40 aAB	6,70 aB
Sem inoculação	8,30 aA	6,01 bA	6,50 bA	8,00 aA	8,00 aA	7,50 aA
CV	13,7 %					
----- Massa seca radicular (g) -----						
Inoculado	1,27 ns	1,20 ns	1,60 ns	1,40 ns	1,42 ns	1,28 ns
Sem inoculação	1,39 ns	1,13 ns	1,14 ns	1,18 ns	1,28 ns	1,13 ns
CV	17,9 %					
----- Massa seca caule (g) -----						
Inoculado	0,75 ns	0,81 ns	1,05 ns	0,90 ns	0,67 ns	0,74 ns
Sem inoculação	0,90 ns	0,75 ns	0,82 ns	0,78 ns	0,86 ns	0,97 ns
CV	23,2%					
----- Massa seca total (g) -----						
Inoculado	4,03 ns	4,32 ns	5,01 ns	4,60 ns	3,88 ns	4,11 ns
Sem inoculação	4,38 ns	4,05 ns	4,04 ns	3,96 ns	4,22 ns	4,20 ns
CV	21,5%					

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro de cada variável analisada, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$); ns = interação não significativa a 5% de probabilidade de erro pelo Teste F ($p \leq 0,05$). **CV = coeficiente de variação.

O efeito das doses de Zn no índice de clorofila total foi significativo somente para plantas sem inoculação, na qual a resposta foi quadrática negativa, com ponto de máxima na dose de 920 mg kg^{-1} de Zn no solo (Figura 2A). Como o Zn participa na biossíntese da clorofila (MARENCO e LOPES, 2009; TAIZ e ZEIGER, 2009), as altas concentrações do Zn no solo proporcionadas pelas crescentes doses podem ter favorecido maior produção deste pigmento. Entretanto, é importante considerar que geralmente plantas que sofrem efeito da toxidez de Zn apresentam sintomas de clorose foliar (HOODA, 2010) o que não foi observado para *C. citriodora* até 1500 mg kg^{-1} de Zn aplicados no solo, correspondendo a $606,85 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn disponível no solo (Tabela 2). Entretanto, esse efeito positivo das doses de Zn no índice de clorofila total não pode ser evidenciado nas mudas inoculadas com o fungo ectomicorrízico, podendo estar relacionado a maior capacidade de absorção de nutrientes, proporcionado pela presença das hifas fúngicas na matriz do solo (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

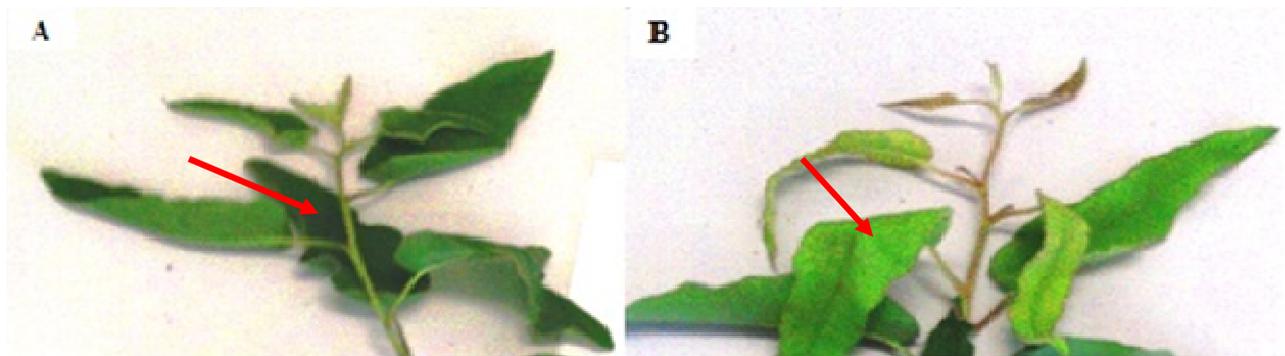


Figura 1 – Clorofila total das folhas de *C. citriodora* inoculado com UFSC - Pt116 (A) e sem inoculação (B), cultivado em solo sem adição de Zn.

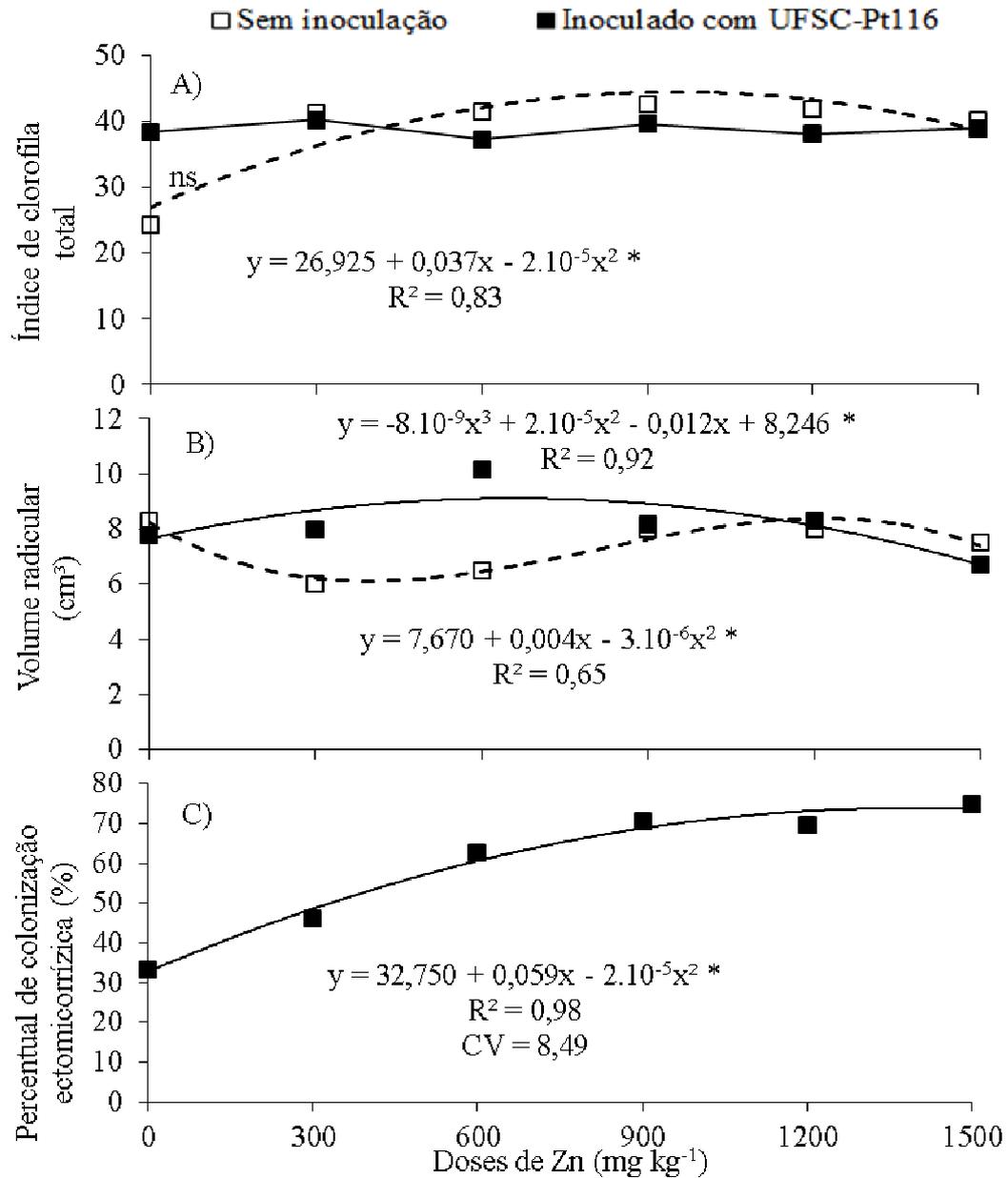
O volume radicular apresentou interação significativa ($p \leq 0,05$) entre o tratamento inoculação e as doses de Zn testadas nas mudas de *C. citriodora*, com diferença significativa para inoculação apenas nas doses 300 e 600 mg kg^{-1} de Zn, sendo que nessas doses as mudas inoculadas apresentaram maior volume radicular em relação as sem inoculação (Tabela 3). As raízes com ectomicorrizas geralmente manifestam mais ramificações (RAVEN et al., 2007;

SMITH e READ, 2008), e sofrem engrossamento (BRUNDRETT, 2008), o que pode ter ocasionado maior volume nas doses de 300 e 600 mg kg⁻¹ de Zn.

O efeito das doses, para o volume radicular das plantas inoculadas com o isolado UFSC-Pt116 foi significativo com resposta quadrática negativa em relação ao acréscimo das doses de Zn aplicadas ao solo (Figura 2B). A análise de regressão revelou ponto de máxima para o volume radicular em 750 mg kg⁻¹ de Zn no solo (Figura 2B). Devido ao estresse causado pela maior dose de Zn (1.500 mg kg⁻¹), é possível que as plantas possam ter favorecido o desenvolvimento das hifas do fungo, em detrimento das raízes, devido a situação de estresse, sendo assim beneficiadas pela proteção das hifas que tem capacidade de imobilizar metais (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006).

O volume radicular das plantas sem inoculação apresentou resposta cúbica a aplicação das doses crescentes de Zn no solo (Figura 2B). E o menor volume radicular foi atingido com a dose de 392,37 mg kg⁻¹ de Zn, com ponto de inflexão na dose de 833,33 mg kg⁻¹ de Zn, e atingindo o maior volume radicular na dose 1.274,29 mg kg⁻¹ de Zn. Resposta que pode estar relacionada ao efeito tóxico do Zn nas doses iniciais, e uma posterior resposta da planta as doses crescentes, ativando prováveis mecanismos de resistência ao Zn até a dose de 1.274,29 mg kg⁻¹. Esse resultado corrobora com o relato de Grazziotti et al. (2003) que consideraram esta espécie como tolerante aos metais pesados por eles testados, com reduzida capacidade de retenção dos metais nas raízes, e maiores teores na parte aérea, com provável mecanismo de destoxificação na parte aérea.

A análise de regressão para o percentual de colonização ectomicorrízica revelou ponto de máxima em 1.412,21 mg kg⁻¹ de Zn, por meio de resposta quadrática negativa em relação ao aumento de Zn aplicado ao solo (Figura 2C). Observa-se que a adição de Zn no solo, estimulou a micorrização de *C. citriodora* até 1.412,21 mg kg⁻¹. Esse resultado corrobora com o relato de Moreira e Siqueira (2006), onde afirmam que *Pisolithus* sp. apresentam elevada tolerância a Zn. A produção de massa micelial em meio contaminado e a taxa de colonização da planta hospedeira é importante para a proteção das raízes (GRAZZIOTTI et al., 2003). Eucalipto submetido a proporções menores de solo contaminado com um total de 17.937 mg dm⁻³ de Zn, somado a outros metais pesados, aumentaram a colonização ectomicorrízica a ponto que proporções maiores de solo contaminado reduziram a colonização (SOARES et al., 2002).



*Significativo a 1% de probabilidade de erro pelo Teste de F. ns = Pontos ligados por linha contínua não apresentaram diferença significativa para análise de regressão a 5% de probabilidade de erro. na = sem ajuste de regressão. CV = Coeficiente de variação.

Figura 2 – Equação de regressão e pontos médios referentes ao índice de clorofila total de *C. citriodora* com e sem inoculação com UFSC - Pt116 (A). Equação de regressão do volume radicular e pontos médios de *C. citriodora* com e sem inoculação com UFSC - Pt116 (B). Percentual de colonização ectomicorrízica de *C. citriodora* inoculado com UFSC - Pt116, em função das doses de Zn adicionadas no solo (C).

Não houve interação significativa para a relação massa seca aérea/massa seca radicular e relação altura/diâmetro do colo (Tabela 4). Desmembraram-se os efeitos simples, e apenas o fator (A) inoculação apresentou significância para o Teste F ($p \leq 0,05$), na qual observa-se nas mudas inoculadas a menor relação massa seca aérea/massa seca radicular quando comparadas as mudas não inoculadas com o isolado UFSC-Pt116 (Tabela 4). Isso demonstra que a inoculação de *C. citriodora* com o isolado UFSC - Pt116 possibilitou o desenvolvimento de maior massa seca radicular em relação parte aérea das plantas e se manteve próximo do valor recomendado, que é de 2:1 (BRISSETTE, 1984, CALDEIRA et al., 2008). Esse resultado corrobora com Souza et al. (2004) que obtiveram aumento de 38% da matéria seca do sistema radicular em *E. dunnii* inoculado com o isolado UFSC-Pt116, quando comparado as plantas não inoculadas, e pode ser atribuído ao aumento do número total de raízes secundárias e pela modificação estrutural das raízes, quando colonizadas por fungos ectomicorrízicos (SMITH e READ, 2008). Desse modo, a presença do isolado ectomicorrízico proporcionou distribuição adequada entre as partes transpirantes e absortivas de água em relação às mudas de *C. citriodora* sem inoculação.

Tabela 4 - Relação massa seca aérea/massa seca radicular e a relação altura/diâmetro do colo de *C. citriodora*, inoculado com o isolado de fungo ectomicorrízico, UFSC - Pt116, e sem inoculação, cultivado em solo contaminado com doses crescentes de Zn.

Tratamentos	Doses Zn (mg kg^{-1})						Média geral
	0	300	600	900	1.200	1.500	
----- Relação massa seca aérea/massa seca radicular -----							
Inoculado	2,15 ns	2,55 ns	2,18 ns	2,28 ns	1,09 ns	2,25 ns	2,08 b*
Sem inoculação	2,16 ns	2,61 ns	2,48 ns	2,32 ns	2,35 ns	2,76 ns	2,44 a
CV**	22,8%						21,20%
----- Relação altura/diâmetro do colo -----							
Inoculado	9,25 ns	8,53 ns	7,74 ns	7,94 ns	8,2 ns	8,53 ns	-
Sem inoculação	7,57 ns	8,39 ns	8,36 ns	8,47 ns	7,39 ns	7,16 ns	-
CV	13,03%						-

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ns = interação não significativa pelo Teste F ($p \leq 0,05$). **CV = coeficiente de variação.

A relação altura/diâmetro do colo não apresentou significância para a interação e os fatores desmembrados (Tabela 4). Os valores da relação altura/diâmetro do colo se

mantiveram próximos ou acima do valor máximo (8,1), da faixa considerada como ideal por Carneiro (1995). Os maiores valores foram obtidos em plantas inoculadas, demonstrando um maior crescimento em altura em relação ao diâmetro do colo (JOHNSON e CLINE, 1991) e representando um menor equilíbrio de desenvolvimento nestas plantas (CARNEIRO, 1995), possivelmente devido a maior capacidade de absorver os nutrientes do solo devido a ação das hifas dos fungos (KABATA-PENDIAS, 2010).

5.5 Conclusões

A adição de doses de até 1500 mg kg⁻¹ (606,85 mg kg⁻¹ de Zn disponível no solo) de Zn em solo com 81% de argila não afeta o crescimento em mudas transplantadas de *C. citriodora* num período de 67 dias.

O percentual de colonização ectomicorrízica em *C. citriodora* é estimulado pelo acréscimo de até 1.412,21 mg kg⁻¹ de Zn no solo.

A inoculação com o fungo *Pisolithus microcarpus* favorece a relação massa seca aérea/massa seca radicular em mudas transplantadas de *C. citriodora* num período de 67 dias.

5.6 Referências Bibliográficas

ABRAF - Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário estatístico da ABRAF 2012, ano base 2011**. Brasília, DF, 2012. 150 p.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O.; CURI, N.; MOREIRA, F. M. S. Amenização do calcário na toxidez de zinco e cádmio para mudas de *Eucalyptus camaldulensis* cultivadas em solo contaminado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 775-783, 2004.

ALVES, A. M. C.; SILVA, J. A. A.; FERREIRA, R. L. C.; BARRETO, L. P. Quantificação da produção de biomassa em clones de eucaliptos com 4,5 anos, no polo gesseiro do Araripe-PE. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 48, p.161-173, 2007.

ANDREAZZA, R.; ANTONIOLLI, Z. I.; SILVA, R. F.; LONGHI, S. J. Espécies de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 14, p. 51-59, 2004.

BELLION, M; COURBOT, M.; JACOB, C.; BLAUDEZ, D.; CHALOT, M. Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v. 254, p. 173-181, 2006.

BLAUDEZ, D.; BOTTON, B.; CHALOT, M. Cadmium uptake and subcellular compartmentation in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. **Microbiology**, v. 146, p. 1109-1117, 2000.

BORGES JR, M.; MELLO, J. W. V.; SCHAEFER, C. E.G. R.; DUSSIN, T. M.; ABRAHÃO, W. A. P. Valores de referência local e avaliação da contaminação por Zn em solos adjacentes a áreas mineradas no município de Vazante-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 2883-2893, 2008.

BOUGHER, N.L.; GROVE, T.S.; MALAJCZUK, N. Growth and phosphorus acquisition of karri (*Eucalyptus diversicolor* B. Muell.) seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in relation to phosphorus supply. **New Phytologist**, v. 114, p. 77-85, 1990.

BRISSETTE, J. C. Summary of discussions about seedling quality. Separata de: Southern Nursery Conferences (1984 : Alexandria, LA). **Proceedings...** New Orleans: USDA. Forest Service. Southern Forest Experiment Station, p.127-128, 1984.

BROWN, S. L.; HENRY, C. L.; CHANEY, R. L.; COMPTON, H.; DEVOLDER, P. S. Using municipal biosolids in combination with other residuals to restore metal-contaminated mining areas. **Plant Soil**, v. 249, p. 203-215, 2003.

BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK, N. **Working with mycorrhizal in forestry and agriculture**. Canberra: ACIAR, 1996. 400 p.

BRUNDRETT, M. C. **Mycorrhizal Associations: The Web Resource**. 2008. Disponível em: <mycorrhizas.info>. Acesso em: 05 nov. 2012.

CALDEIRA, M. V. W.; ROSA, G. N.; FENILLI, T. A. B.; HARBS, R. M. P. Composto orgânico na produção de mudas de aroeira-vermelha. **Scientia Agraria**, v. 9, p. 27-33, 2008.

CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba, UFPR/FUPEF, 1995. 451 p.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Valores orientadores para solos e águas subterrâneas no estado de São Paulo**. Diretoria de controle e licenciamento ambiental. 2005. (Decisão de diretoria N° 195-2005- E, de 23 de novembro de 2005).

CHANEY, R. L.; REEVES, P. G.; RYAN, J. A.; SIMMONS, R. W.; WELCH, R. M.; ANGLE, J. S. An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods to remediate soil Cd risks. **BioMetals**, v. 17, p. 549-553, 2004.

CHANG, A. C.; PAGE, A. L. Trace elements slowly accumulating, depleting in soils. **California Agriculture**, v. 54, p. 49-55, 2000.

COSTA, M. D.; PEREIRA, O. L.; KASUYA, M. C. M.; BORGES, A. C. ECTOMICORRIZAS: A Face Oculta das Florestas. **Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 29, p. 38-46, 2002.

COURBOT, M.; DIEZ, L.; RUOTOLO, R.; CHALOT, M.; LEROY, P. Cadmium-responsive thiols in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 7413-7417, 2004.

DACH, J.; STARMANS, D. Heavy metals balance in Polish and Dutch agronomy: Actual state and previsions for the future. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.107, p. 309-316, 2005.

EBBS, S. D.; KOCHIAN, L. V. Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*) and Indian mustard (*Brassica juncea*). *Environmental Science & Technology*, v. 32, p. 802-806, 1998.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. Rio de Janeiro, 1997, 212 p.

ENTRY, J. A.; EMMINGHAM, W. H. Sequestration of Cs¹³⁷ and Sr⁹⁰ from soil by seedlings of *Eucalyptus tereticornis*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 25, p. 1044–1047. 1995.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **Introduction to Phytoremediation**. Cincinnati, OH: National Risk Management Research Laboratory / Office of Research and Development/ Environmental Protection Agency. 2000. 105 p. Disponível em: <<http://www.epa.gov>>. Acesso em: 14 out. 2012.

EPA. U.S. - Environmental Protection Agency. **Use of Field-Scale Phytotechnology for Chlorinated Solvents, Metals, Explosives and Propellants, and Pesticides**. Cincinnati, OH: Environmental Protection Agency. 2005. 14 p. Disponível em: <<http://www.cluin.org/download/remed/542-r-05-002.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2012.

FALKER – Automação agrícola. **Medidor Eletrônico de Teor de Clorofila**: Dados Técnicos clorofiLOG CFL1030. Rev. C – Set. 2009. 6 p. Disponível em: http://www.falker.com.br/download.php?file_id=74>. Acesso em 27 de dez. 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v. 6, p. 36-41. 2008.

GARCÍA, G.; FAZ, Á.; CUNHA, M. Performance of *Piptatherum miliaceum* (Smilo grass) in edaphic Pb and Zn phytoremediation over a short growth period. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 54, p. 245-250, 2004.

GONZALEZ, J. A. Z.; COSTA, M. D.; SILVA, I. V.; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. B.; BORGES, A. C. B. Acúmulo de ácido oxálico e cristais de cálcio em ectomicorrizas de eucalipto. i - produção de ácido oxálico e concentração de nutrientes em raízes laterais finas colonizadas por fungos ectomicorrízicos. Seção III – Biologia do Solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33, 541-553, 2009.

GRAMATYKA, P.; NOWOSIELSKI, R.; SAKIEWICZ, P. Recycling of waste electrical and electronic equipment. **Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering**, v. 20, p. 535-538, 2007.

GRAZZIOTTI, P. H. **Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acácia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados**. 1999. 177 p. (Tese de Doutorado) – Universidade Federal de Lavras. Lavras - MG, 1999.

GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Espécies arbóreas e ectomicorrizas em relação ao excesso e metais pesados. In: CURI, R. F.; MARQUES, J. J.; GUILHERME, L. R. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S.; ALVARES V., V. H. (Eds). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 3, p. 55-105, 2003.

GRACE, C.; STRIBLEY, D. P. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycological Research**, v. 95, p. 1160-1162, 1991.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley, CA: University of California, (California Agricultural Experiment Station). Circular, 1951. 347 p. Disponível em: <<http://www.cluin.org/download/remed/542-r-05-002.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2012.

HOODA, P. S. **Trace Elements in Soils**. Ed. 1. United Kingdom: Wiley-Blackwell. 2010. 616 p.

ITRC - Interstate Technology & Regulatory Council. **Emerging technologies for the remediation of metals in soils - Phytoremediation**. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update. 1997. Disponível em: <www.itrcweb.org>. Acesso em: 05 out. 2012.

ITRC - Interstate Technology & Regulatory Council. **Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised. PHYTO-3**. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team, Tech Reg Update. 2009. Disponível em: <www.itrcweb.org>. Acesso em: 06 out. 2012.

JOHNSON, J. D.; CLINE, P. M. Seedling quality of southern pines. In: DUREYA, M. L.; DOUGHERTY, P. M. (Eds.). **Forest regeneration manual**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.143-162. 1991.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. Ed. 4. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2010. 548 p.

KOS, B.; GRČMAN, H.; LEŠTAN, D. Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. **Plant Soil Environment**, v. 49, p. 548-553, 2003.

LIMA, E. V.; ARAGÃO, C. A.; MORAIS, O. M.; TANAKA, R.; FILHO, H. G. Adubação NK no desenvolvimento e na concentração de macro-nutrientes no florescimento do feijoeiro. **Scientia Agrícola**, v.58, p.125-129, 2001.

LINCOLN, J. D.; OGUNSEITAN, O. A.; SHAPIRO, A. A.; SAPHORES, J. D. M. Leaching assessments of hazardous materials in cellular telephones. **Environmental Science & Technology**, v. 41, p. 2572-2578, 2007.

MAGALHÃES, M. O. L.; SOBRINHO, N. M. B. A.; SANTOS, F. S.; MAZUR, N. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 805-812, 2011.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal. Fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral.** 3 ed. Viçosa: UFV, 2009. 486 p.

MARX, D. H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathology**, v. 59, p. 153-163, 1969.

MELLO, A. H.; ANTONIOLLI, Z. I.; KAMINSKI, J.; SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, V. L. Fungos arbusculares e ctomicorrízicos em áreas de eucalipto e de campo nativo em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 3, p. 293-301, 2006.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo.** Lavras - MG: Editora UFLA, 2006. 729 p.

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 184, p. 105-126, 2007.

PULFORD, I. D.; WATSON, C. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees, a review. **Environment International**, v. 29, p. 529-540, 2003.

PUNSHON, T.; DICKINSON, N. M.; LEPP, N. W. The potential of *Salix* clones for bioremediating metal polluted soil. In: GLIMMERVEEN, I. (Ed). **Heavy metals and trees: Proceedings of a Discussion Meeting, Glasgow.** Edinburgh: Institute of Chartered Foresters, p. 93-104, 1996.

RAMOS, S.; CASTRO, E. M.; CARMO PINTO, S. I.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, C.; PEREIRA, G. C. Uso do silício na redução da toxidez de zinco em mudas de eucalipto. **Interciencia**, v. 34, p. 189-194. 2009.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, Rio de Janeiro-RJ: Guanabara, Koogan. 2007. 906 p.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; OLIVEIRA, J. B. de; COELHO, M. R.; LUMBRERAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos.** 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

SCHUMACHER, M. V.; CALDEIRA, M. V. W. Estimativa da biomassa e do conteúdo de nutrientes de um povoamento de *Eucalyptus globulus* (Labillardière) sub-espécie *maidenii*. **Ciência Florestal**, v. 11, p. 45-53. 2001.

SILVA, P. H. M.; POGGIANI, F.; STAPE, J. L.; BRITO, J. O.; MOREIRA, R. Produção de óleo essencial e balanço nutricional em *Corymbia citriodora* adubado com lodo de esgoto em diferentes espaçamentos. **Cerne**, v.15, p. 346-354. 2009.

SMITH, H.J.; HENSON, M.; BOYTON, S. Forests NSW' spotted gum (*Corymbia* spp.) tree improvement and deployment strategy. **Proceeding of the inaugural Australasian Forest Genetics Conference**, Breeding for Wood Quality, Tasmania. 10–14 April 2007.

SMITH, S. E.; READ, D. **Mycorrhizal Symbiosis**. Ed. 3., London: Elsevier, Academic Press. 2008. 800 p.

SBCS – Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Comissão de Química e Fertilidade do Solo - RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul, 2004. 400 p.

SOARES, C. R. F. S.; ACCIOLY, A. M. A; SIQUEIRA, J. O; MOREIRA, F. M. S. Diagnóstico e reabilitação de área degradada pela contaminação por metais pesados. CEMAC; **V Simpósio Nacional sobre Recuperação de Áreas Degradadas**. Lavras, v. 1, p. 56-82. 2002.

SOUSA, N. R.; FRANCO, A. R.; OLIVEIRA, R. S. CASTRO. P. M. L. Ectomycorrhizal fungi as an alternative to the use of chemical fertilisers in nursery production of Pinus pinaster. **Journal of Environmental Management**. v. 95, Supplement p. 269–274. March 2012.

SOUZA, L. A. B.; FILHO, G. N. S.; OLIVEIRA, V. L. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção do crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 349-355, 2004.

STUCZYNSKI, T.; SIEBIELEC, G.; DANIELS, W. L.; McCARTY, G.; CHANEY, R. L. Biological aspects of metal waste reclamation with biosolids. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, p. 1154-1162, 2007.

SWEDISH EPA - Swedish Environmental Protection Agency. **Recycling and disposal of electronic waste**. Health hazards and environmental impacts. Stockholm, Sweden. report 6417, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TEDESCO, M. J; GIANELLO, C; BISSANI, C. A; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre-RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5).

VILAS BÔAS, O.; MAX, J. C. M.; MELO, A. C. G. Crescimento comparativo de espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia* no município de Marília, SP. **Revista Instituto Florestal**, v. 21, p. 63-72, 2009.

VITAL, M. H. F. Impacto Ambiental de Florestas de Eucalipto. **Revista do BNDES**, v. 14, p. 235-276, 2007.

WHITING, S. N.; REEVES, R. D.; RICHARDS, D.; JOHNSON, M. S.; COOKE, J. A.; MALAISSE, F.; PATON, A.; SMITH, J. A. C.; ANGLE, J. S.; CHANEY, R. L.; GINOCCHIO, R.; JAFFRE, T.; JOHNS, R.; MCINTYRE, T.; PURVIS, O. W.; SALT, D. E.; SCHAT, H.; ZHAO, F. J.; BAKER, A. J. M. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. **Restoration Ecology**, v. 12, p. 106-116, 2004.

6 DISCUSSÃO

A contaminação do solo por metais pesados está atrelada à produção de manufaturados e à utilização de materiais na forma de adubos, contendo concentrações variadas sobre o solo. A ação humana sobre o planeta lançou no meio ambiente 1,35 milhões de toneladas de Zn nas últimas cinco décadas (SINGH et al., 2003). Na busca de sanar os danos causados pela contaminação do solo, são utilizadas algumas técnicas, dentre estas, a fitorremediação, que é considerada de baixo custo quando comparada aos métodos físicos e químicos tradicionais (ALKORTA et al., 2004), e tem como vantagens principais a aplicação em grandes áreas moderadamente contaminadas e a manutenção do solo no local após a remoção dos contaminantes (KALIŠOVÁ-ŠPIROCHOVÁ et al., 2003). Entretanto, esta técnica é relativamente nova e ainda carece de resultados sobre a resposta de algumas espécies em solo contaminado (PADMAVATHIAMMA e LI, 2007). Na busca destas respostas, avaliou-se o crescimento de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* em solo contaminado por Zn, e o efeito da associação com isolados ectomicorrízicos no desenvolvimento de eucalipto em solo contaminado por Zn.

A partir dos resultados dos trabalhos desenvolvidos, observaram-se distintas respostas das espécies de eucalipto avaliadas com relação às doses crescentes de Zn no solo. Os resultados revelaram que as variáveis altura, comprimento da raiz principal, volume radicular, número de folhas, área foliar total, massa seca radicular, massa seca da aste caulinar, massa seca das folhas e massa seca total do *E. dunnii* foram afetadas pela adição de 980 mg kg⁻¹ de Zn no solo.

O número de folhas em mudas de *C. citriodora* e o comprimento da raiz principal em *E. grandis*, *C. citriodora* e *E. saligna* não foram afetados pela adição de 980 mg kg⁻¹ de Zn no solo. Observou-se também que *C. citriodora* apresentou a maior altura de planta, comprimento da raiz principal, volume radicular, massa seca da aste caulinar, massa seca das folhas, massa seca das raízes e massa seca total que *E. grandis*, *E. saligna* e *E. dunnii* em solo contaminado com 980 mg kg⁻¹ de Zn. Magalhães et al. (2011) observaram que a retenção de Zn na planta varia conforme a espécie de eucalipto. Enquanto Soares et al. (2001) observaram que a tolerância a toxicidade do Zn também varia entre as espécies de eucalipto.

Os resultados obtidos neste trabalho vão ao encontro dos relatados em trabalhos com eucalipto e doses de Zn, revelando ainda uma possível tolerância de *C. citriodora* a solo

contaminado por Zn e que espécies de mesmo gênero, respondem de forma diferenciada a contaminação do solo por Zn. Desse modo, no caso da utilização de eucalipto em solo contaminado por metais, há a necessidade de seleção em nível de espécie de planta.

O uso de ectomicorrizas em plantas fitorremediadoras aumenta a possibilidade de crescimento das plantas, pois induz a tolerância a diversos estresses bióticos ou abióticos as quais as plantas são submetidas (BRUNDRETT, 2009). A forma mais eficaz de associar um fungo eficiente a planta é via inoculação das mudas ainda no viveiro (ANDREAZZA et al., 2004; MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Contudo as ectomicorrizas apresentam especificidade fungo-hospedeiro (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006), tornando necessário o estudo da capacidade e dos efeitos da associação. Desse modo, durante este trabalho, avaliou-se o efeito dos isolados ectomicorrízicos UFSC-Pt116, UFSC-121, UFSC-132 no desenvolvimento das mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii*. Os resultados revelaram efeitos diferenciados entre isolado e espécies de eucalipto. Embora *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* associam-se com fungos, foi observada diferença no crescimento com os isolados de fungos inoculados.

As mudas de *E. grandis* e *E. saligna* inoculadas com UFSC-Pt116, UFSC-121 e UFSC-132 desenvolveram-se praticamente da mesma forma que as mudas não inoculadas. *C. citriodora* e o *E. dunnii* manifestaram crescimento em suas variáveis ao serem inoculadas com o isolado UFSC-132, apresentando-se promissor para produção de mudas inoculadas em viveiro. O isolado UFSC-Pt116 gerou uma taxa de colonização radicular diferenciada entre as espécies de eucalipto estudadas, sendo o maior o percentual de colonização radicular obtido no *C. citriodora*.

Devido ao desenvolvimento do *C. citriodora* em relação às demais espécies testadas em solo contaminado por Zn e de sua capacidade em formar ectomicorriza, desenvolveu-se um terceiro estudo, no intuito de avaliar o desenvolvimento de mudas de *C. citriodora* e o efeito da inoculação com *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) em solo contaminado com Zn. Os resultados revelaram que a adição de 1.500 mg kg⁻¹ de Zn no solo com 81% de argila não afetou o desenvolvimento das mudas de *C. citriodora*, Assemelhando-se ao exposto por Salt et al. (1998), os quais relataram que o *C. citriodora* é uma espécie tolerante a metais pesados. Além disso, outras espécies de *Corymbia* sp. também mostraram-se tolerantes ao Zn, pois, conforme Soares et al. (2001), *C. maculata* é mais tolerante a toxicidade do Zn que o *E. urophylla*, na qual, o nível crítico na parte aérea de *C. maculata* foi de 853 mg kg⁻¹ de Zn, valor este superior aos 400 mg kg⁻¹ de Zn considerados como tóxicos para a maioria das espécies por Kabata-Pendias (2010). O percentual de colonização ectomicorrízica foi

estimulado até $1.412,21 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn no solo. Este resultado é fundamentado pelas informações de Soares et al. (2002), que relatam que em algumas espécies, como *Eucalyptus urophylla*, a colonização ectomicorrízica aumentou em solo pouco contaminado com metal, mas reduziu nas contaminações mais elevadas. Embora não se tenha detectado efeito da micorrização nas plantas de *C. citriodora* no parâmetro crescimento da planta, observou-se melhor relação massa seca aérea/massa seca radicular após 67 dias do transplante das mudas para solo contaminado por Zn.

Com base nos resultados obtidos, a espécie *C. citriodora* merece atenção com relação a sua possível capacidade de tolerar elevados teores de Zn no solo. Por apresentar também capacidade de formar ectomicorrizas, recomenda-se estudos relacionados ao efeito de inoculação de outros isolados de fungos micorrízicos para esta espécie, bem como uma avaliação acerca de sua resposta a outros metais pesados contaminantes de solo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies *E. grandis*, *C. citriodora* e *E. saligna* sobrevivem a adição de até 980 mg kg⁻¹ de Zn em um solo com 79% de argila. *E. dunnii* também sobrevive a este teor de Zn aplicado, mas diferente das outras espécies avaliadas apresenta redução significativa no desenvolvimento de suas partes vegetativas. Enquanto que o *C. citriodora* é a espécie que apresenta a maior altura de planta, comprimento da raiz principal, volume radicular, massa seca da haste caular, massa seca das folhas, massa seca das raízes e massa seca total nesta dose.

No teste de capacidade de associação micorrízica via inoculação das mudas de *E. grandis*, *C. citriodora*, *E. saligna* e *E. dunnii* em viveiro, estes apresentam-se favoráveis a associação com os isolados de fungos ectomicorrízicos *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116), *Pisolithus tinctorius* (UFSC-132) e o isolado UFSC-121. Entretanto, há resposta diferenciada das variáveis analisadas de cada espécie em relação a cada isolado ectomicorrízico, demonstrando haver a existência de especificidade de resposta de cada espécie de eucalipto com relação a cada isolado fúngico, conforme indicado na literatura. O isolado ectomicorrízico de *Pisolithus tinctorius* (UFSC-132) coloniza amplamente o sistema radicular das mudas de *E. dunnii* e *C. citriodora* em condições de viveiro. Sendo que o *C. citriodora* apresenta maior percentual de colonização ectomicorrízica quando inoculado com o isolado de *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116).

O desenvolvimento do *C. citriodora* não é afetado com a adição de 1.500 mg kg⁻¹ de Zn no solo com 81% de argila, que corresponde a 606,85 mg kg⁻¹ de Zn disponível no solo. O isolado micorrízico de *Pisolithus microcarpus* (UFSC-Pt116) aumenta o percentual de colonização das raízes de *C. citriodora* até 1.412,21 mg kg⁻¹ Zn aplicados no solo, porém não gera efeito diferenciado nas plantas com ele inoculadas.

Os resultados indicam uma possível capacidade de tolerância do eucalipto *C. citriodora* a altas concentrações de Zn no solo. Podendo ser recomendado para estudos a campo em solo contaminado com Zn. Além disso, esta espécie apresenta afinidade em formar ectomicorrizas, possibilitando que sejam testados novos isolados em trabalhos futuros, almejando um desenvolvimento mais rápido durante a produção das mudas em viveiros e a sobrevivência das plantas quando cultivadas em condições de estresse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKORTA, I.; HERNANDEZ-ALLICA, J.; BECERRIL, J. M.; AMEZAGA, I.; ALBIZU, I.; GARBISU, C. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3, p. 71-90, 2004.

ANDREAZZA, R.; ANTONIOLLI, Z. I.; SILVA, R. F.; LONGHI, S. J. Espécies de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, v. 14, p. 51-59, 2004.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. Ed. 4. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2010. 548 p.

KALIŠOVÁ-ŠPIROCHOVÁ, I.; PUNCOCHÁROVÁ, J.; KAFKA, Z.; KUBAL, M.; SOUDEK, P.; VANEK, T. Accumulation of heavymetals by in vitro cultures of plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 3, p. 269-276, 2003.

MAGALHÃES, M. O. L.; SOBRINHO, N. M. B. A.; SANTOS, F. S.; MAZUR, N. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, p. 805-812, 2011.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras - MG: Editora UFLA, 2006. 729 p.

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 184, p. 105-126, 2007.

SINGH, O. V.; LABANA, S.; PANDEY, G.; BUDHIRAJA, R.; JAIN, R. K. Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, p. 405-412, 2003.

SOARES, C. R. F. S.; GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G.; MOREIRA, F. M. S. Toxidez de zinco no crescimento e nutrição de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 339-348, 2001.

*