

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CAMPUS DE FREDERICO WESTPHALEN  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA: AGRICULTURA  
E AMBIENTE

Alex Negrini

**AMENIZANTE ORGÂNICO E MICORRIZAS ARBUSCULARES EM  
MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO  
COM COBRE**

Frederico Westphalen, RS  
2017

**Alex Negrini**

**AMENIZANTE ORGÂNICO E MICORRIZAS ARBUSCULARES EM MUDAS DE  
EUCALIPTO CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE**

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

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Ferreira da Silva

Frederico Westphalen, RS  
2017

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

Negrini, Alex  
AMENIZANTE ORGÂNICO E MICORRIZAS ARBUSCULARES EM  
MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO COM  
COBRE / Alex Negrini.- 2017.  
70 p.; 30 cm

Orientador: Rodrigo Ferreira da Silva  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Campus de Frederico Westphalen, Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia - Agricultura e Ambiente, RS, 2017

1. Contaminação do Solo 2. Arbóreas Exóticas 3. Fungos  
Micorrízicos Arbusculares I. Silva, Rodrigo Ferreira da  
II. Título.

---

© 2017

Todos os direitos reservados a Alex Negrini. 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, Frederico Westphalen – RS. CEP 98400-000.

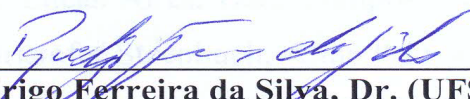
E-mail: alex.negrini@yahoo.com.br

AGRI TOS  
Alex Negrini

AMENIZANTE ORGÂNICO E MICORRIZAS ARBUSCULARES EM MUDAS DE  
EUCALIPTO CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

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

**Aprovado em 28 de julho de 2017:**

  
\_\_\_\_\_  
**Rodrigo Ferreira da Silva, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
**Fábio Joel Kochem Mallmann, Dr. (URI)**

  
\_\_\_\_\_  
**Hilda Hildebrand Soriani, Dra. (UFSM)**

Frederico Westphalen, RS  
2017

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e força nas horas boas e ruins.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade de realizar mais esta etapa de minha formação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente, por oportunizar esta qualificação.

Ao professor, orientador e amigo Rodrigo Ferreira da Silva pela confiança em trabalharmos juntos.

Aos professores Clóvis Orlando Da Ros e Hilda Hildebrand Soriani, pela amizade e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Fábio Joel Kochem Mallmann, Hilda Hildebrand Soriani e Marcos Toebe, pela disponibilidade.

Aos laboratoristas e amigos Lucindo Somavilla, Marcela de Melo Torchelsen, Andrea Giovenardi e Fernanda Volpato, pelo auxílio nas análises laboratoriais e uso de equipamentos.

Aos amigos, Douglas Leandro Scheid, Daniel Boeno, Hazael Soranzo de Almeida, Willian Fernando de Borba e em especial Rudinei De Marco, pela amizade e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e colegas de laboratório que muito contribuíram para este trabalho: Mateus Vanzan, Elton Rippel, Lucas Aires, Dara Campos Milczarek, Paola Daiane Welter, Jerusa Grolli, Taís Hempe, Christofer Steenbuch, Aline Primon, Kétila Carvalho, Julia Wink, Juliano Silva, Angela Luane Wandscheer, Marieli Grancke, Tatiane Rodrigues Dias e Claudiane Bellocchio.

Aos amigos Felipe Bonini da Luz, Cícero Ortigara, José Alcides S. de Freitas, Daniel Aquino de Borba, Gerry Rieth Vanderlei Rodrigues da Silva e demais membros do Laboratório de Física do Solo.

À Natana Carati, pelo companheirismo em todas as horas, pelo incentivo e por estar presente nesse momento especial.

E por fim, à minha família, meus pais Valdecir e Ivarlei Negrini, pelo suporte e incentivo, e meus irmãos Alan e Anderson.

**A todos, muito obrigado!**

## RESUMO

### AMENIZANTE ORGÂNICO E MICORRIZAS ARBUSCULARES EM MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

AUTOR: Alex Negrini

ORIENTADOR: Rodrigo Ferreira da Silva

As atividades antrópicas têm elevado os teores de cobre no solo, tornando esse elemento químico tóxico às plantas. O uso de plantas associadas ou não com microrganismos, além de compostos orgânicos, com finalidade de minimizar os efeitos dos metais se tornam interessante nessa situação, a fim de possibilitar a revegetação destes solos contaminados com cobre. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo determinar o crescimento, tolerância e acúmulo de cobre em espécies de eucalipto e a influência do uso de composto de água residuária de suinocultura e fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e acúmulo de cobre em mudas de eucalipto cultivado em solo contaminado com cobre. Para atender este objetivo desenvolveu-se três experimentos, no qual o primeiro visou determinar o crescimento, tolerância e acúmulo de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora*; O segundo determinou o efeito amenizante de água residuária de suinocultura à contaminação do solo com cobre e sua influência no crescimento de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*. Enquanto no terceiro determinou-se a influência do uso conjugado de fungos micorrízicos arbusculares e composto de água residuária de suinocultura no crescimento e acúmulo de cobre em *Eucalyptus grandis*. Os resultados evidenciaram que as mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora* tiveram seus parâmetros morfológicos reduzidos com as doses de cobre, a maior parte do cobre acumulado na raiz, e maior tolerância das espécies *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus dunnii*. O composto de água residuária de suinocultura proporciona maior crescimento, acúmulo de cobre e qualidade de mudas nas espécies de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*. A adição de composto de água residuária de suinocultura com inóculo de fungos micorrízicos arbusculares *Gigaspora margarita* aumenta os parâmetros morfológicos, qualidade de mudas e acúmulo de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com cobre.

**Palavras-chave:** Metal Pesado. Contaminação do Solo. Arbóreas Exóticas. Fungos Micorrízicos Arbusculares.

## ABSTRACT

### ORGANIC SWEETENER AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAE IN EUCALYPTUS SEEDLINGS GROWN ON SOIL CONTAMINATED WITH COPPER

AUTHOR: Alex Negrini

ADVISOR: Rodrigo Ferreira da Silva

Anthropogenic activities have elevated copper levels in the soil making this chemical element toxic to plants. The use of plants associated or not with microorganisms, in addition to organic compounds with the purpose of minimizing the effects of the metals become interesting in this situation, to allow the revegetation of these soils contaminated with copper. To meet the objectives were conducted three experiments, In which the first one aimed to determine the growth, tolerance and accumulation of copper in *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunni* and *Corymbia citriodora*; The second one determined the mitigating effect of swine wastewater on soil contamination with copper and its influence on the growth of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus saligna*; While the third, was determined the influence of the conjugated use of arbuscular mycorrhizal fungi and swine wastewater compost on the growth and accumulation of copper in *Eucalyptus grandis*. The results showed that the seedlings of *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunni* and *Corymbia citriodora* had their morphological parameters reduced with the doses of copper, most of the copper accumulated in the root, and greater tolerance of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus dunni* species. The swine wastewater compost provides higher growth, copper accumulation and seedling quality in the species of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus saligna*. The addition of swine wastewater compost with the arbuscular mycorrhizal fungi inoculum *Gigaspora margarita* increases the morphological parameters, seedling quality and copper accumulation in *Eucalyptus grandis* seedlings grown in soil contaminated with copper.

**Keywords:** Heavy metal. Ground Contamination. Exotic Trees. Arbuscular Mycorrhizal Fungi.

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

- Tabela 1 – Análise química do solo utilizado para a produção de mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora*..... 21
- Tabela 2 – Fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), eficiência quântica máxima PSII ( $F_v/F_m$ ), eficiência efetiva do PSII (YII), taxa de transporte de elétrons (ETR) e dissipação fotoquímica (qP) das mudas de *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo com doses crescentes de cobre..... 32

### ARTIGO 2

- Tabela 1 – Teores disponíveis e totais de nutrientes no solo e no composto de água residuária de suinocultura (CARS) utilizado para o desenvolvimento das mudas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*..... 40

### ARTIGO 3

- Tabela 1 – Teores disponíveis e totais de nutrientes no solo e no composto de água residuária de suinocultura (CARS) utilizado para o desenvolvimento das mudas de *Eucalyptus grandis*..... 54
- Tabela 2 – Altura, diâmetro de colo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA) e radicular (MSR), massa seca total (MST) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de *Eucalyptus grandis*, sem e com inoculação do fungo *Gigaspora margarita* (Com GM) e *Acaulospora colombiana* (Com AC) sem e com adição de composto orgânico em solo contaminado com cobre. .... 58
- Tabela 3 – Efeitos simples dos tratamentos de inoculação sem fungo, com *Gigaspora margarita* (Com GM) e com *Acaulospora colombiana* (Com AC) para o teor de cobre na parte aérea (CuPA) e radicular (CuR), cobre acumulado na parte aérea (CuAPA) e radicular (CuAR), acumulado total (CuAT) e para o índice de translocação (ITRA) de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado..... 59
- Tabela 4 – Efeitos simples dos tratamentos sem e com composto de água residuária de suinocultura para o teor de cobre na parte aérea (CuPA) e radicular (CuR), cobre acumulado na parte aérea (CuAPA) e radicular (CuAR), acumulado total (CuAT) e para o índice de translocação (ITRA) de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em substrato contaminado. .... 60



## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO 1

Figura 1 – Teores pseudo-totais de cobre em função das doses do metal (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg <sup>-1</sup> ) adicionadas ao solo .....	24
Figura 2 – Altura (A), diâmetro de colo - DC (B), massa seca da parte aérea – MSPA (C), massa seca radicular - MSR (D), área superficial específica - ASE (E) e índice de qualidade de Dickson – IQD (F) de mudas de <i>C. citriodora</i> , <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> em solo contaminado com cobre .....	26
Figura 3 – Equações de regressão para o teor de cobre na parte aérea CuPA (A) e radicular CuR (B), cobre acumulado na parte aérea CuAPA (C) e radicular CuAR (D) de mudas de <i>C. citriodora</i> , <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> cultivadas em solo contaminado com cobre.....	29
Figura 4 – Equações de regressão para índice tolerância Itol (A) e índice de translocação Itra (B) de mudas de <i>C. citriodora</i> , <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> cultivadas em solo contaminado com cobre.....	30
Figura 5 – Fator de bioconcentração (A) e coeficiente de bioacumulação (B) das mudas de <i>C. citriodora</i> , <i>E. dunnii</i> , <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> cultivadas em solo com doses crescentes de cobre.....	31

### ARTIGO 2

Figura 1 – Teores pseudo-totais de cobre no solo em função das proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS) aplicadas como amenizante no solo contaminado com 400 mg de Cu kg <sup>-1</sup> de solo. ....	43
Figura 2 – Altura (A), diâmetro de colo - DC (B), massa seca parte aérea – MSPA (C) e radicular - MSR (D), área superficial específica - ASE (E) e índice de qualidade de Dickson – IQD (F) de mudas de <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> cultivadas em solo contaminado por cobre e tratado com diferentes proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS) .....	45
Figura 3 – Teores de cobre na parte aérea CuPA (A) e raiz CuR (B), cobre acumulado na parte aérea CuAPA (C) e radicular CuAR (D), cobre acumulado total CuAT (E) e índice de translocação ITRA (F) em mudas de <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> cultivadas em solo contaminado com cobre em diferentes proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS) .....	47
Figura 4 – Equações de regressão para Teor de cobre disponível no solo - CuDisp (A) e teor de cobre retido na matéria orgânica - CuMO (B) no cultivo de mudas de <i>E. grandis</i> e <i>E. saligna</i> cultivadas em solo contaminado com cobre em diferentes proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS) .....	48

### ARTIGO 3

Figura 1 – Porcentagem de colonização micorrízica de mudas de <i>Eucaliptus grandis</i> submetidas aos tratamentos sem composto e com composto associados a ausência (SF) ou presença de fungos <i>Acaulospora colombiana</i> (Com AC) ou <i>Gigaspora margarita</i> (Com GM), cultivadas em substrato contaminado com 400 mg kg <sup>-1</sup> de cobre.....	56
--	----

Figura 2 – Eficiência relativa (ER) dos fatores de variação inóculo e composto para a altura de mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com 400 mg kg<sup>-1</sup> cobre. Tratamento com adição de composto de água residuária de suinocultura, com inóculo de *Gigaspora margarita* e *Acaulospora colombiana* e com composto + de *Gigaspora margarita* (C + GM) e composto + *Acaulospora colombiana* (C + AC)..... 61

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
2.1	COBRE NO SOLO E ESPÉCIES ARBÓREAS.....	14
<b>2.1.1</b>	<b>Fitorremediação</b> .....	15
2.2	AMENIZANTES ORGÂNICOS .....	16
2.3	FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES .....	17
<b>3</b>	<b>ARTIGO 1 – CRESCIMENTO, TOLERÂNCIA E ACÚMULO DE COBRE EM MUDAS DE EUCALIPTO</b> .....	19
3.1	RESUMO .....	19
3.2	ABSTRACT .....	19
3.3	INTRODUÇÃO.....	20
3.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	21
<b>3.4.1</b>	<b>Condução do experimento</b> .....	22
<b>3.4.2</b>	<b>Avaliação morfológica</b> .....	22
<b>3.4.3</b>	<b>Metal na planta</b> .....	23
<b>3.4.4</b>	<b>Parâmetros da fluorescência da clorofila</b> .....	23
<b>3.4.5</b>	<b>Análise estatística</b> .....	24
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
<b>3.5.1</b>	<b>Concentração de cobre no solo</b> .....	24
<b>3.5.2</b>	<b>Efeito do cobre sobre o crescimento de plantas de eucalipto</b> .....	25
<b>3.5.3</b>	<b>Concentração e acúmulo de cobre nas plantas de eucalipto</b> .....	28
3.6	CONCLUSÕES .....	33
3.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
<b>4</b>	<b>ARTIGO 2 – USO DE COMPOSTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA COMO AMENIZANTE EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE NO CULTIVO DE ESPÉCIES DE EUCALIPTO</b> .....	37
4.1	RESUMO .....	37
4.2	ABSTRACT .....	37
4.3	INTRODUÇÃO.....	38
4.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	39
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.6	CONCLUSÕES .....	48
4.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
<b>5</b>	<b>ARTIGO 3 – COMPOSTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA E MICORRIZAS ARBUSCULARES NO CRESCIMENTO E ACÚMULO DE COBRE EM <i>Eucalyptus grandis</i></b> .....	51

5.1	RESUMO .....	51
5.2	ABSTRACT .....	51
5.3	INTRODUÇÃO.....	52
5.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	54
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.6	CONCLUSÕES .....	61
5.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A contaminação do solo com cobre (Cu) é um problema que está em constante avanço no Brasil e no mundo e tem se tornado uma preocupação para com o meio ambiente, e tem origem nas atividades industriais, de mineração, de urbanização e aplicação de defensivos agrícolas. Apesar de ser um micronutriente às plantas, o Cu quando presente em altas concentrações pode causar toxidez aos vegetais, além de problemas de saúde pública e contaminação do meio ambiente. Nesse contexto, é fundamental pesquisas que contribuam para a redução da disponibilidade de cobre no solo, reduzindo seu efeito contaminante.

O uso de plantas com finalidade de remediação de áreas contaminadas é uma alternativa economicamente viável para tratar “*in loco*” esse problema. Essas plantas necessitam de boa adaptação, grande capacidade de produção de biomassa e crescimento e desenvolvimento a curto prazo. Por isso se tem a necessidade de estudos com a finalidade de identificar essas espécies que demonstrem características desejáveis para a fitorremediação de solos contaminados. Nesse sentido, o eucalipto é uma espécie que desperta interesse, pois além ter boa adaptação também apresenta crescimento rápido e elevada produção de biomassa.

De outra forma, algumas vezes as concentrações de metais pesados no solo não permitem o crescimento e desenvolvimento de plantas nessas áreas. Nestes casos, têm-se a necessidade do uso de substâncias que amenizem o efeito dos contaminantes às plantas. O uso de composto de água residuária de suinocultura (CARS) pode ser uma alternativa na redução da disponibilidade de metais no solo, complexando esses elementos na matéria orgânica, e assim proporcionando melhores condições para o desenvolvimento dos vegetais.

O uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em associação simbiótica com plantas, juntamente com amenizantes ou não, pode contribuir para a absorção de água e nutrientes, aumentar a extração de metais pesados do solo, além de proporcionar uma barreira de proteção as raízes. Para isso, fazem-se necessárias pesquisas que identifiquem espécies de FMAs que apresentem essas características simbióticas com as espécies florestais de interesse.

Portanto, o uso de espécies florestais em solos com altas concentrações de metais pesados, de composto orgânico como amenizante e de fungos micorrízicos arbusculares pode ser uma alternativa para remediar áreas impactadas com contaminantes. Nesse sentido as hipóteses que permeiam esse estudo são: (i) as espécies de eucalipto diferem em características para fitorremediação, crescimento, tolerância e acúmulo de cobre no solo; (ii) o

CARS apresenta potencial amenizante dos efeitos do cobre em mudas de eucalipto; e (iii) os fungos micorrízicos arbusculares em conjunto com o uso de CARS contribui para o desenvolvimento e acúmulo de Cu em mudas de eucalipto. Desse modo, este trabalho teve como objetivo determinar o crescimento, tolerância e acúmulo de Cu em espécies de eucalipto e a influência do uso de CARS e FMA no crescimento e acúmulo de Cu em mudas de eucalipto cultivadas em solo contaminado com este metal pesado.

Para atender às hipóteses e ao objetivo deste trabalho foram realizados três experimentos. O primeiro trabalho foi determinar o crescimento, a tolerância e o acúmulo de Cu em mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corimbia citriodora*. O segundo foi determinar o efeito amenizante do CARS à contaminação do solo com Cu e sua influência no crescimento de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*. Já o terceiro trabalho buscou determinar a influência do uso conjugado de FMA e CARS no crescimento e acúmulo de Cu em *Eucalyptus grandis* cultivado em solo contaminado.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 COBRE NO SOLO E ESPÉCIES ARBÓREAS

O cobre é um micronutriente, porém em altas concentrações é um metal pesado tóxico que causa danos aos seres vivos (ANDREAZZA et al., 2010). Embora o Cu seja considerado um elemento essencial, quando presente no solo em concentrações elevadas causa diversas alterações morfológicas e fisiológicas nos vegetais (FERREIRA et al., 2016). Áreas ditas como contaminadas são locais que podem configurar riscos à saúde pública e ao meio ambiente (CONAMA, 2009). Esses altos níveis de metais pesados no solo se deve a intensa e contínua utilização desses elementos pelo homem, resultando no aumento da contaminação do meio ambiente, tornando-se uma problemática que exige intensa pesquisa (ANDREAZZA et al., 2013). As principais fontes de cobre nos solos se originam das atividades de extração de minérios, distribuição de lamas de esgoto e uso desenfreado de agroquímicos na agricultura (ANDRADE et al., 2010). Além da contaminação antropogênica, também pode ocorrer de forma natural, através do intemperismo de rochas oriundas do material de origem que contém metais pesados em sua constituição (HUGEN et al., 2013).

De acordo com a resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), o valor orientador como limite máximo para o cobre total em áreas agrícolas é de 200 mg kg<sup>-1</sup> sem que ocorra intervenção (CONAMA, 2009). Entretanto, conforme a Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) em sua portaria Nº 85/2014, o valor de referência de qualidade (VQR) para cobre total em solos originados de rochas vulcânicas do planalto do estado do Rio Grande do Sul, classificado de acordo com as províncias geomorfológicas/geológicas, é de 203 mg kg<sup>-1</sup> (FEPAM, 2014). No estado do Rio Grande do Sul, de acordo com relatos de Andrezza et al. (2013), não se sabe exatamente o número de áreas contaminadas com cobre, mas algumas estão situadas em áreas de vitivinicultura na serra do nordeste e em áreas de mineração na serra do sudeste.

O cobre, apesar de ser classificado como um metal pesado está entre os elementos essenciais ao desenvolvimento e crescimento dos vegetais (YRUELA, 2013). São definidos como metais pesados os elementos com densidade relativa maior que 5 g cm<sup>-3</sup> e se encontram em rochas e em locais de aplicação de rejeitos e alguns produtos utilizados na agricultura (CARNEIRO et al., 2001). De outra forma, quando o cobre presente no solo em altas concentrações pode prejudicar o crescimento e desenvolvimento das plantas, por causa dos distúrbios provocados na estrutura das proteínas e inibição do alongamento celular causado

pelo aumento na permeabilidade da membrana plasmática e lignificação da parede celular (YRUELA, 2009). Além disso, o cobre em excesso pode interferir em processos celulares, como fotossíntese, síntese de pigmentos e outros mecanismos importantes, os quais provocam redução do crescimento das plantas (SANCHEZ-PARDO et al., 2014).

A disponibilidade do cobre no solo está relacionada à força de interação com os diferentes componentes que integram o solo. A sorção máxima envolvendo o cobre relaciona-se ao acúmulo do elemento na interface solo-solução, e se diferencia entre os constituintes, diminuindo conforme a seguinte ordem: óxidos de Mn > matéria orgânica > óxidos de Fe > argilominerais (BRADL, 2004).

### 2.1.1 Fitorremediação

A fitorremediação é uma técnica que utiliza plantas para reduzir as concentrações ou os efeitos tóxicos dos contaminantes nas áreas afetadas, é uma tecnologia relativamente recente, de baixo custo e com boa aceitação pública (ALI et al., 2013). Esta técnica de remediação pode estar associada ou não a agentes amenizantes (De MARCO et al., 2017). De acordo com Marques et al. (2011), a fitorremediação pode ser considerada uma técnica para recuperar áreas contaminadas. Além disso, o clima tropical e a biodiversidade que o Brasil apresenta se tornam interessantes para o desenvolvimento de pesquisas em fitorremediação. Uma planta para ser considerada apta para a remediação deve ter a capacidade de se desenvolver em locais com presença de contaminantes sem ser influenciada em seu crescimento e, além disso, ser capaz de extrair e acumular metais (PAJEVIC et al., 2009).

Para que se consiga atingir bons resultados no processo de fitorremediação, é importante que as espécies que serão utilizadas tenham bom crescimento e desenvolvimento. De acordo com Vasconcellos et al. (2012), a técnica que utiliza plantas para remediar áreas contaminadas ainda necessita de estudos sobre as plantas que são aptas para a fitorremediação. Souza e Fiorentin (2013) relatam que o *Eucalyptus grandis* é uma espécie que tem desenvolvimento rápido e elevada produção de biomassa, características que são interessantes quando se busca plantas para ser utilizadas em áreas com contaminação, além de apresentar grande capacidade de adaptação a diferentes condições geológicas, principalmente em áreas tropicais (FREITAS et al., 2012). Uma característica importante para espécies fitorremediadoras é o acúmulo do contaminante no sistema radicular, apresentada pela espécie *Eucalyptus saligna* que teve maior acúmulo total de zinco, ficando a maior parte do zinco retida nas raízes, e a espécie *Eucalyptus urophylla*, com maior acúmulo de zinco na



parte aérea (MAGALHÃES et al., 2011). Desta forma, o eucalipto com suas características de boa adaptação, crescimento rápido e elevada produção de biomassa apresenta-se como uma alternativa para ser usado na fitorremediação de solos contaminados.

## 2.2 AMENIZANTES ORGÂNICOS

A matéria orgânica pode promover a redução significativa da disponibilidade de íons metálicos no ambiente, em decorrência da presença de substâncias ricas em grupos funcionais com cargas negativas, tais como ácidos carboxílicos e hidroxilas fenólicas e alcoólicas, que são justamente os sítios que podem adsorver os metais em solução (MORREIRA et al., 2012), diminuindo a absorção pelos vegetais e a lixiviação (PARK et al., 2011), e com isso possibilita o estabelecimento dos vegetais onde essa contaminação esteja em níveis elevados (SANTOS et al., 2010).

Portanto, presença de altos teores de matéria orgânica no solo pode reduzir a disponibilidade de contaminantes no solo, favorecendo a planta e o processo de fitorremediação (VASCONCELLOS et al., 2012). Entre os materiais mais utilizados como amenizantes de solos contaminados por metais pesados, se destacam os corretivos de acidez, como o calcário, fosfatos, óxidos de Fe e Mn e materiais orgânicos das mais variadas formas (SANTOS et al., 2007).

Dessa maneira, a matéria orgânica, provida das mais diversas fontes, é uma ótima ferramenta para reduzir os efeitos dos contaminantes em áreas contaminadas por metais pesados (SCHWAB et al., 2007). Como fonte de matéria orgânica, a turfa atuou como amenizantes de toxicidade dos elementos Zn, Cu, Mn, Pb e B em solo contaminado, reduzindo os efeitos tóxicos e beneficiando o desenvolvimento de mostarda (SANTOS et al., 2007).

A utilização de compostos orgânicos provenientes de resíduos produzidos nas atividades animais é uma alternativa no uso em atividades agrícolas e quando destinados da forma correta não causam problemas de contaminação do ambiente (SANTOS et al., 2010), e diminui os níveis trocáveis de Cu, Zn, Mn e Pb (WALKER et al., 2004). Desta forma, a utilização de composto orgânico de água residuária de suinocultura (CARS) pode promover efeito amenizante de cobre em áreas contaminadas, além de favorecer o crescimento das plantas.

O CARS é produzido em galpões cobertos com piso de concreto e partições longitudinais por onde ocorre a passagem da máquina de compostagem, que faz o

revolvimento do material, composto por serragem e água residuária de suinocultura. Após o processo de fermentação e maturação, o composto está pronto para ser utilizado como adubo orgânico (SERPA et al., 2012). Esse composto, pelas suas características orgânicas, pode proporcionar efeito amenizante e favorecer o crescimento de plantas em solo contaminado com cobre.

### 2.3 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são fungos de solos que necessitam de um hospedeiro vivo para estabelecer a associação simbiótica, porque necessitam estar nas raízes das plantas, utilizando-se do carbono provido por elas para completar o seu ciclo de vida, sendo assim chamados por produzirem hifas características, denominadas arbúsculos, no interior das células das raízes (DOUDS; MILLNER, 1999). As hifas formam estruturas de penetração nas raízes do tipo apressório, onde através de uma degradação parcial da parede celular das células radiculares ocorre a penetração das hifas e posterior colonização das células do córtex, onde são formados os arbúsculos, que são consideradas as estruturas responsáveis por suprir o fungo com o carbono e os fotoassimilados da planta, e onde a planta obtém os nutrientes e a água retirados do solo pelo fungo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Os FMAs formam relações mutualistas especializadas, caracterizadas por um biotrofismo balanceado e de natureza evolutiva, apresentando evidências de um comportamento não específico, relativo à suas formas de colonização (SMITH; READ, 2008).

As plantas apresentam diversos mecanismos para enfrentar locais com altos teores de metais pesados e podem se associar a micorrizas que exercem um papel chave para diminuir o efeito tóxico à planta, e na membrana plasmática, desempenhando função na homeostase dos contaminantes, controlando ou evitando a entrada na célula (ALI et al., 2013). Sob diversas condições de estresse, a maioria das plantas superiores é colonizada por FMAs, que podem ter vários efeitos benéficos no crescimento da planta (FOLLI-PEREIRA et al., 2012). A inoculação de FMA favoreceu a redução nos teores de elementos-traço na parte aérea das plantas, ocasionou incrementos significativos no acúmulo de As, Cu, Zn e Cr para todas as leguminosas avaliadas (STOFFEL et al., 2016). Os FMA desempenham também ação importante para o crescimento de espécies arbóreas em áreas de mineração de carvão, as quais apresentam ambientes pobres, degradados e muitas vezes contaminados (STOFFEL et al., 2016).

O eucalipto possui a capacidade de formar associação com fungos micorrízicos arbusculares (CAMPOS et al., 2011) e podem proporcionar às plantas maior tolerância em solos com metais pesados, tendo sido recomendados para utilização em processos de revegetação (LINS et al., 2007). A espécie de FMA *Acaulospora longula* contribuiu para o desenvolvimento de mudas de *Leucaena leucocephala* em área impactada por mineração de cobre (LINS et al., 2007). O uso de fungos micorrízicos arbusculares favoreceu o crescimento de mudas de *Mimosa caesalpiniaefolia* em substrato da mineração de manganês (GARCIA et al., 2016).

A inoculação com fungos micorrízicos arbusculares pode reduzir a disponibilidade de Cu às videiras e, com isso, reduzir o efeito citotóxico em plantas jovens (ROSA et al., 2016). Como estratégia para o fungo sobreviver em locais com altos teores de metais, pode ser a retenção do contaminante no micélio fúngico ou esporos, reduzindo a sua absorção (CORNEJO et al., 2013). Cada espécie de fungo apresenta sua particularidade, sendo ou não eficiente em áreas com contaminação com metais pesados. Portanto, os benefícios proporcionados pela associação simbiótica variam entre as espécies de fungos micorrízicos arbusculares (ROSA et al., 2016). Desta forma, a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em plantas cultivadas em áreas contaminadas com cobre pode ser uma alternativa para promover o crescimento e acúmulos de metais na planta.

### 3 ARTIGO 1 – CRESCIMENTO, TOLERÂNCIA E ACÚMULO DE COBRE EM MUDAS DE EUCALIPTO

#### 3.1 RESUMO

O cobre, além de ser um micronutriente, quando presente em altas concentrações no solo, pode ser prejudicial ao desenvolvimento das plantas. No entanto, algumas espécies são capazes de tolerar e acumular esse metal em seus tecidos. O trabalho objetivou avaliar o crescimento, a tolerância e o acúmulo de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora*. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (4 x 6), sendo quatro espécies de eucalipto e seis doses de cobre (zero, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg<sup>-1</sup>) com 8 repetições, conduzidas por 120 dias em casa de vegetação. Avaliou-se a altura, o diâmetro do caule, a massa seca da raiz e da parte aérea, a área superficial específica de raízes, o índice de qualidade de Dickson, a concentração e o acúmulo de cobre no sistema radicular e parte aérea, os índices de tolerância e translocação, os fatores de bioacumulação e bioconcentração, e parâmetros fotoquímicos (fluorescência inicial, fluorescência máxima, rendimento quântico máximo PSII (Fv/Fm), rendimento efetivo do PSII (YII), dissipação fotoquímica (Qp) e taxa de transporte de elétrons (ETR)). Os resultados demonstraram que o cobre reduziu os parâmetros morfológicos das mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora*. Uma pequena parte do cobre foi translocada para a parte aérea, sendo que a maior parte se acumulou no sistema radicular. As espécies *Corymbia citriodora* e *Eucalyptus saligna* apresentaram maior índice de tolerância ao cobre.

**Palavras-chave:** Solo Contaminado. Fitorremediação. Espécies Exóticas. Metal Pesado.

#### 3.2 ABSTRACT

Copper besides being a micronutrient, when present in high concentrations in the soil, can be harmful to the development of the plants. However, some species are able to tolerate and accumulate this metal in their tissues. The objective of this study was to evaluate the growth, tolerance and accumulation of copper in *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* and *Corymbia citriodora* seedlings. Was used a completely randomized design in a factorial arrangement (4 x 6), four species of eucalyptus and six doses of copper (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg<sup>-1</sup>), With eight replicates, conducted for 120 days in a greenhouse. We evaluated the seedling height, stem diameter, root and shoot dry weight, the levels and the cumulative amount of copper in roots and shoots, the quality scores Dickson, tolerance and translocation, the factors of bioaccumulation and bioconcentration, and photochemical parameters (initial fluorescence, maximum fluorescence, maximum PSII (Fv / Fm) quantum yield, effective PSII yield (YII), and photoelectrochemical dissipation (Qp) and electron transport rate (ETR). The results showed that copper reduced the morphological parameters of *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* and *Corymbia citriodora*. A small part of the copper was translocated to the aerial part, most of which accumulated in the root system. The species *Corymbia citriodora* and *Eucalyptus saligna* had a higher tolerance index for copper.

**Key-word:** Soil contaminated. Phytoremediation. Exotic species. Heavy metal.

### 3.3 INTRODUÇÃO

Os metais pesados são encontrados em diferentes locais, como solos e sedimentos, água, amostras biológicas e até mesmo no ar, todos com potencial para se tornarem tóxicos (DGHAIM et al., 2015). O cobre (Cu), quando em altas concentrações, é um dos principais metais pesados com potencial poluidor nos solos e águas (ANDREAZZA et al., 2010), sendo essencial para o crescimento e desenvolvimento normal dos vegetais. Esse metal quando presente no solo em altas concentrações, pode afetar o crescimento e desenvolvimento das plantas (SANTOS et al., 2010), devido ao cobre provocar distúrbios na estrutura das proteínas e impedir o alongamento celular, uma vez que aumenta a permeabilidade da membrana plasmática e lignificação da parede celular (YRUELA, 2009).

A principal causa de altas concentrações de Cu no solo é antrópica, devido à intensificação das atividades industriais, agrícolas e de urbanização causando poluição do solo e gerando impactos ambientais (ANDREAZZA et al., 2010). A mineração, juntamente com a aplicação de fungicidas cúpricos em vinhedos, contribui em sobremaneira para a contaminação do solo com Cu (CHAIGNON; HINSINGER, 2003). Devido ao crescente aumento dessas áreas contaminadas, faz-se necessário o uso de tecnologias que propiciem a redução dos efeitos tóxicos desse metal pesado.

A fitorremediação é um processo que faz uso de plantas para retirar metais pesados do ambiente através da absorção, acumulação e/ou transformação do contaminante em sua biomassa, sendo considerada uma ferramenta que pode ser utilizada para a recuperação de áreas impactadas por metais pesados (ANDREAZZA et al., 2013). Além disso, Pilon-Smits (2005) cita como estratégias de fitorremediação: a fitoextração, fitoestabilização, rizofiltração, fitotransformação e fitoestimulação. Nesse sentido, o uso de espécies arbóreas é considerado uma técnica relevante para a recuperação de áreas contaminadas com metais, pois estas produzem grande quantidade de biomassa além de ter longo ciclo de crescimento (DOMÍNGUEZ et al., 2009).

Estudos mostram que doses crescentes de Cu no solo reduzem o crescimento e a qualidade de mudas de pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) e carne-de-vaca (*Pterogyne nitens*), diferentemente do que ocorre com mudas de timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*), que toleram maiores doses do nutriente no solo (SILVA et al., 2016). De Marco et al. (2017) observaram que mudas da espécie *Eucalyptus grandis* apresentam alta capacidade de acumular Cu no sistema radicular, o que possibilitaria seu uso para a fitoestabilização em áreas com solo contaminado com o metal. Nesse sentido, o eucalipto pode ser uma alternativa

para a fitorremediação de áreas contaminadas, pois é uma planta com boa adaptação as condições climáticas no Brasil, apresenta crescimento e desenvolvimento relativamente rápido e grande produção de biomassa (MAGALHÃES et al., 2011).

Considera-se como hipótese deste trabalho que as espécies *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunni* e *Corymbia citriodora* são diferentes quanto a suas características para a fitorremediação do cobre, como adequado crescimento, tolerância e acúmulo do metal em sua fitomassa.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento, a tolerância e o acúmulo de cobre em mudas de eucalipto cultivadas em solo contaminado com cobre.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Ciências Agrônomicas e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria, *Campus* de Frederico Westphalen, entre os meses de outubro de 2015 e janeiro de 2016. O solo utilizado no experimento foi caracterizado como um Latossolo Vermelho, coletado em área agrícola na camada de 0 - 20 cm, cujos atributos químicos e argila estão especificados na Tabela 1, conforme metodologia descrita por Mann e Ritchie (1993) para o cobre trocável (extrator KCl 0,005 mol L<sup>-1</sup>) e por Tedesco et al. (1995) para os demais atributos.

Tabela 1 – Análise química do solo utilizado para a produção de mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunni* e *Corymbia citriodora*

pHágua	Ca+Mg	Al	H+AL	P	K	Cu	M.O.	Argila
1:1	----- cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> -----			----- mg kg <sup>-1</sup> -----			---- % -----	
5,6	2,23	0,0	3,3	6,5	126,5	12,73	1,1	62,00

Fonte: Autor (2017).

As sementes das espécies de eucalipto utilizadas no experimento foram fornecidas pelo Centro de Pesquisas Florestais da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), unidade de Santa Maria/RS. A semeadura foi realizada em sementeiras e quando as mudas apresentaram um par de folhas definitivas foram transplantadas para sacos plásticos de polietileno com capacidade volumétrica de 1.000 cm<sup>3</sup>. Cada saco plástico com seu conteúdo de solo e uma muda foi considerado uma unidade experimental (UE).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (4 x 6), sendo quatro espécies florestais (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson, *Eucalyptus saligna* Smith e *Eucalyptus dunnii* Maiden) e seis doses de cobre adicionadas ao solo [0 (teor natural do solo), 80, 160, 240, 320 e 400 mg kg<sup>-1</sup>], com oito repetições.

As doses de cobre foram aplicadas 30 dias antes do transplante das mudas na forma de solução de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), sendo diluídas em 50 mL de água destilada para possibilitar homogeneização. No momento do transplante das mudas, foram coletadas amostras de solo para a determinação dos teores de cobre pseudo-totais, conforme metodologia 3050b descrita em USEPA (1996).

### 3.4.1 Condução do experimento

O experimento foi conduzido por 120 dias após o transplante das mudas e no decorrer deste período foram realizadas irrigações diárias, mantendo-se a umidade a 70-80% da capacidade de campo. As fertilizações foram realizadas no transplante das mudas, aplicando o equivalente a 150 g de nitrogênio (N) na forma de ureia, 700 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 100 g de K<sub>2</sub>O por m<sup>3</sup> de solo, e em cobertura utilizando 100 g de N na forma de ureia e 30 g de K<sub>2</sub>O diluídos em 10 L de água e aplicados 50 mL por UE. A fertilização após o transplante das mudas foi realizada em três épocas: aos 30 dias, com aplicação de N e K; aos 60 dias, somente N; e aos 90 dias com N e K, seguindo as recomendações de Gonçalves e Benedetti (2005). De forma a atender às exigências do delineamento, semanalmente foi realizado rodízio das UE.

### 3.4.2 Avaliação morfológica

Ao final do experimento foi quantificado a altura da parte aérea (H), com régua graduada, do colo das mudas até o ápice caulinar; o diâmetro do colo (DC), com paquímetro digital; a massa seca do sistema radicular (MSR) e da parte aérea (MSPA), ambos separados na região do colo da muda e secos em estufa a 60±1 °C até massa constante, pesadas em balança analítica e calculada a massa seca total (MST) pela soma das MSR e MSPA. Com base nestes parâmetros foi calculado o índice de qualidade de Dickson (IQD) (Dickson, 1960), de acordo com a equação:  $IQD = (MST)/[(H/DC)+(MSPA/MSR)]$ . A área superficial específica (ASE) das raízes foi quantificada conforme a metodologia de Tennant (1975).

### 3.4.3 Metal na planta

Após a aferição da massa seca de raízes e parte aérea, as mesmas foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 10 mesh para a determinação dos teores de cobre no tecido vegetal, através de digestão nítrico-perclórica (3:1) e determinação em espectrofotometria de absorção atômica, conforme descrito por Miyazawa et al. (2009).

Com base na MST, nos teores de cobre ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) do sistema radicular (CuR) e da parte aérea (CuPA), nas quantidades acumuladas de cobre ( $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) no sistema radicular (CuAR), na parte aérea (CuAPA) e no total das mudas (CuAT), na dose zero de cobre ( $d_0$ ) e nas doses de 80 à 400  $\text{mg kg}^{-1}$  ( $d_n$ ), foi calculado o índice de tolerância (I<sub>tol</sub>), conforme a equação:  $I_{tol} = (\text{MST}_{d_n}/\text{MST}_{d_0}) * 100$ , que mede a capacidade das mudas crescerem em ambientes com elevada concentração de cobre (WILKINS, 1978) e o índice de translocação (I<sub>tra</sub>), com base na equação:  $I_{tra} = (\text{CuAPA}_{d_n}/\text{CuAT}_{d_n}) * 100$ , que corresponde à porcentagem total absorvida de cobre que foi transportado para a parte aérea (ABICHEQUER; BOHNEN, 1998). O fator de bioconcentração foi determinado pela razão entre a concentração de metal nas raízes ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e a concentração pseudo-total no solo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e o fator de bioacumulação foi determinado pela razão entre a concentração de metal na parte aérea ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) e a concentração pseudo-total no solo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), conforme Yoon et al. (2006).

### 3.4.4 Parâmetros da fluorescência da clorofila

Os parâmetros de fluorescência da clorofila foram medidos na quarta folha totalmente expandida após 120 dias de emergência das plântulas, usando um fluorômetro modulado modelo JuniorPam (Walz, Alemanha), no período ante-manhã, das 04h00 - 06h00 (escuro). A fluorescência inicial ( $F_0$ ) e a fluorescência máxima ( $F_m$ ) foram medidas antes e depois, respectivamente, das folhas receberem um pulso de luz saturante de  $10.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A fluorescência variável ( $F_v$ ) foi calculada com base no incremento da fluorescência inicial até a máxima ( $F_m - F_0$ ) e a eficiência fotoquímica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ) foi calculada como a razão da fluorescência variável sobre a máxima (LICHTENTHALER, 1987). A taxa de transporte de elétrons ( $\text{ETR}_{1500}$ ) foi medida através de curvas de luz (taxa de transporte de elétrons contra radiação fotossinteticamente ativa [PAR]). Curvas de luz foram medidas submetendo cada amostra a nove níveis de radiação (0, 125, 190, 285, 420, 625, 820, 1150 e 1500 elétrons  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), durante 10 segundos.



### 3.4.5 Análise estatística

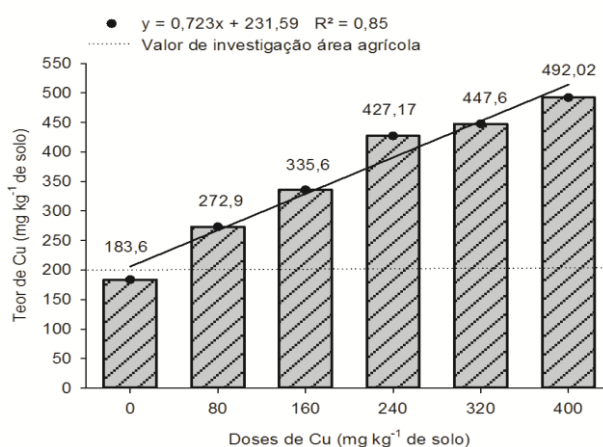
Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando apresentaram interação foram submetidos à análise de regressão do fator de variação quantitativo (doses) dentro de cada nível do fator qualitativo (espécies florestais). Para os parâmetros sem interação, foram desdobrados os efeitos simples, sendo as médias do fator qualitativo (Fator A) comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro e as médias do fator quantitativo (Fator D) submetidos à análise de regressão polinomial pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.5.1 Concentração de cobre no solo

As doses de cobre aplicadas no solo aumentaram as concentrações pseudo-totais de Cu de forma linear, atingindo valores acima dos limites estabelecidos para investigação em áreas agrícolas, que é de  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  (CONAMA, 2009), superando também os VRQ definidos pela FEPAM (2014) que é de  $203 \text{ mg kg}^{-1}$  para solos oriundos de rochas vulcânicas do Planalto (Figura 1). Ainda, nos tratamentos que receberam as maiores doses de Cu (240, 320 e  $400 \text{ mg kg}^{-1}$ ) os teores no solo foram superiores ao dobro do limite de investigação em áreas agrícolas (Figura 1).

Figura 1 – Teores pseudo-totais de cobre em função das doses do metal ( $0, 80, 160, 240, 320, 400 \text{ mg kg}^{-1}$ ) adicionadas ao solo



Fonte: Autor (2017).

### 3.5.2 Efeito do cobre sobre o crescimento de plantas de eucalipto

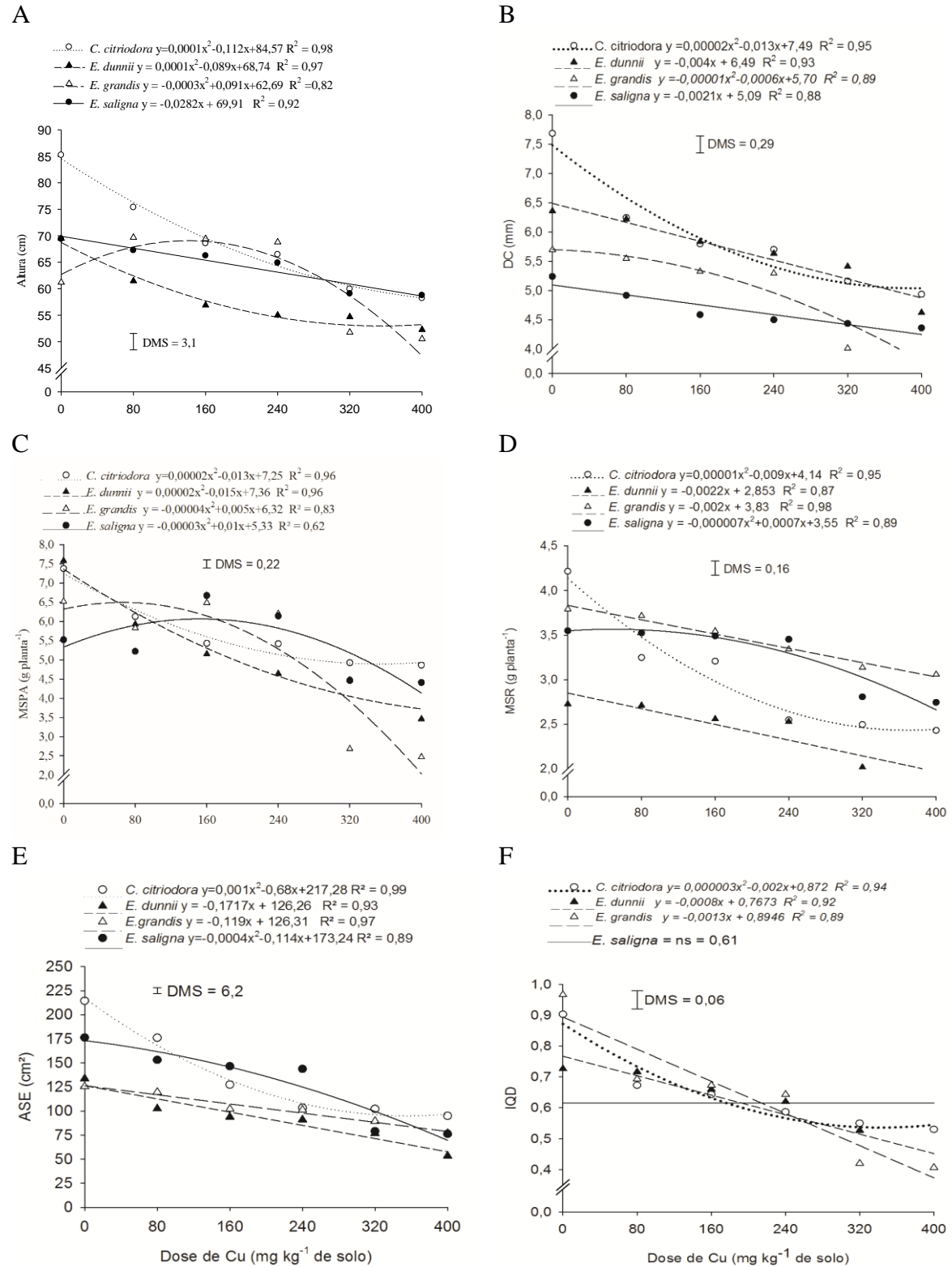
Verificando a interferência desses teores de Cu sobre as plantas de eucalipto, a análise de variância evidenciou interação significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as espécies de eucalipto estudadas e as doses de Cu aplicadas no solo para os parâmetros altura de planta, diâmetro de colo, massa seca da parte aérea e radicular, área superficial específica de raízes e índice de qualidade de Dickson (Figura 2).

As doses de Cu aplicadas no solo apresentaram efeito distinto entre as espécies para a altura das mudas, pois para esse fator foram ajustados modelos de regressão quadrática para *C. citriodora*, *E. grandis* e *E. dunnii* e de regressão linear para *E. saligna* (Figura 2A). Somente em *E. grandis* houve incremento na altura das plantas com as doses de cobre entre 0 e 160 mg kg<sup>-1</sup>, com valor máximo estimado em 151,7 mg kg<sup>-1</sup>, demonstrando menor toxidez e maior efeito nutricional que o micronutriente apresenta sobre esta espécie florestal. A toxicidade do Cu pode se apresentar de forma diferente entre as espécies de plantas, com as mesmas demonstrando alterações morfológicas diferenciadas (GUO et al., 2010). Cada espécie apresenta diferenças em relação à absorção de metais pesados (TAIZ et al., 2017), reportando a especificidade de cada planta em relação aos efeitos dos elementos contaminantes, estando evidenciados tais efeitos nas espécies em estudo, com maior redução na altura das mudas com o aumento das doses de cobre em *C. citriodora*, *E. dunnii* e *E. grandis* em comparação com *E. saligna*.

O diâmetro de colo das mudas reduziu com o aumento das doses de Cu em todas as espécies, mas com menor intensidade em *E. grandis* (Figura 2B). Solos que apresentam altos teores de Cu provocam redução da taxa fotossintética das plantas pois afetam a cadeia de transporte de elétrons, ocasionando a redução da produção de fotoassimilados pelos vegetais, e resultando na redução do crescimento das plantas (KABATA-PENDIAS, 2011). Esse efeito demonstrado pela diferença entre as espécies pode ser atribuído às plantas desenvolverem mecanismos diferenciados de tolerância à toxicidade do metal (LEQUEUX et al., 2010).

Os resultados de massa seca da parte aérea (MSPA) demonstraram efeito quadrático negativo para as espécies *C. citriodora* e *E. dunnii* e comportamento quadrático positivo em *E. grandis* e *E. saligna*, com ponto de máxima eficiência (maior acúmulo de massa seca) nas doses estimadas de 62,5 e 166,6 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 2C). A resposta positiva para *E. grandis* e *E. saligna* pode ser devida ao cobre ser um micronutriente, o qual participa em diversos processos fisiológicos dos vegetais e o limite de tolerância é dependente de cada espécie vegetal (TAIZ et al., 2013).

Figura 2 – Altura (A), diâmetro de colo - DC (B), massa seca da parte aérea – MSPA (C), massa seca radicular - MSR (D), área superficial específica - ASE (E) e índice de qualidade de Dickson – IQD (F) de mudas de *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. saligna* em solo contaminado com cobre



\*DMS: diferença mínima significativa do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: Autor (2017).

No estudo com doses de cobre em mudas de pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*) e carne-de-vaca (*Pterogyne nitens*), Silva et al. (2016) verificaram que a redução da massa seca da parte aérea com o aumento dos níveis do contaminante foi significativa nas duas espécies florestais nativas, com redução de 72 e 74% na dose máxima utilizada de 300 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

A massa seca radicular (MSR) apresentou redução em todas as espécies estudadas com o acréscimo das doses de cobre aplicadas no solo. Porém, em *E. saligna* a redução foi somente a partir da dose de 80 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 2D), indicando que esta espécie se mostrou mais tolerante à adição do contaminante no solo. As menores produções de massa seca radicular com o aumento das doses de cobre obtidas neste trabalho corroboram com os resultados de Silva et al. (2011), no qual o sistema radicular foi o primeiro a ser afetado pelo cobre em mudas de açoita-cavalo (*Luehea divaricate*) e aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*). Contudo, o efeito positivo na massa seca radicular apresentado nas doses iniciais no *E. saligna* pode estar relacionado à tolerância da espécie ao metal, por meio de mecanismos que proporcionam adaptações bioquímicas permitindo à planta tolerar certas concentrações desse contaminante (TAIZ et al., 2017).

As espécies *E. dunnii* e *E. grandis* apresentaram redução linear na ASE radicular com o aumento das doses de Cu. Já *C. citriodora* demonstrou redução quadrática com ponto de mínima na dose estimada 344,0 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto *E. saligna* apresentou ponto de máxima na dose 142,5 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 2E). A redução do crescimento radicular é um dos sintomas mais evidentes do efeito tóxico do cobre (KUKKOLA et al., 2000), pois o Cu em excesso reduz o crescimento longitudinal da raiz devido às barreiras químicas do contaminante, proporcionando maior emissão de raízes secundárias (TAIZ et al., 2017). É possível que nas mudas de *E. grandis* tenha ocorrido maior produção de raízes secundárias, o que se torna interessante por aumentar a área de absorção de água e nutrientes do solo.

Ao índice de qualidade de Dickson foi ajustado o modelo de regressão quadrática para as mudas de *C. citriodora*, com redução evidente do índice de qualidade das mudas já nas primeiras doses de cobre aplicadas no solo, enquanto nas mudas de *E. dunnii* e *E. grandis* houve redução linear de 41,7% e 58,1% no IQD na dose máxima do metal (Figura 2F). Para o cálculo do IQD são considerados atributos morfológicos que demonstram vigor da muda, dentre eles a massa seca aérea e a massa seca da raiz (ROSSI et al., 2008). Conforme Hunt (1990), as mudas com melhor padrão são as que apresentam valor acima de 0,20 no índice de qualidade de Dickson. Como o IQD leva em consideração para o cálculo parâmetros morfológicos, nota-se que *E. saligna* se destacou entre as espécies de eucalipto, sem redução

da qualidade das mudas com as doses de cobre aplicadas no solo e com valor de IQD acima de 0,20, valor mínimo recomendado pela literatura.

### 3.5.3 Concentração e acúmulo de cobre nas plantas de eucalipto

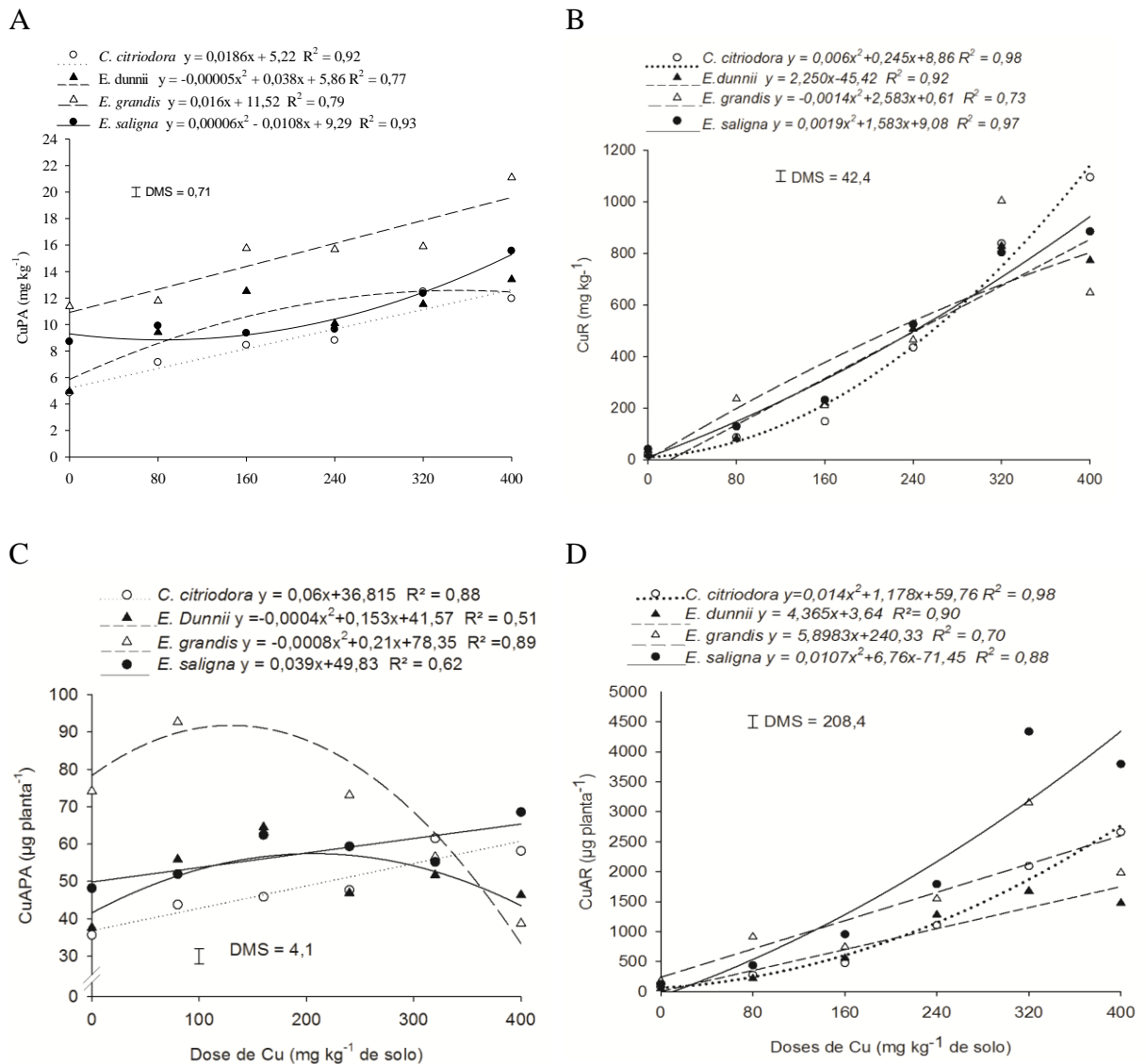
Os teores e as quantidades acumuladas de cobre na parte aérea e nas raízes das mudas aumentaram com intensidade diferente nas espécies de eucalipto em função das doses crescentes do metal aplicadas no solo, apresentando interação significativa entre os dois fatores estudados (Figura 3). Na parte aérea, os teores de Cu foram aumentados com as doses, com maior intensidade nas espécies *E. grandis* e *E. saligna* com valores de 21,1 e 15,5 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 3A). Nas raízes, apesar do ajuste quadrático das equações de regressão para as mudas do *C. citriodora* e *E. saligna*, o aumento dos teores no tecido radicular foi praticamente proporcional às doses do metal aplicadas no solo (Figura 3B). Esses resultados corroboram com os encontrados por De Marco et al. (2017), no qual a espécie *E. grandis* apresentou elevada capacidade de acumular cobre nas raízes. Desta forma, é possível que espécies do mesmo gênero podem apresentar respostas diferentes frente a solos contaminados com cobre.

Quanto ao cobre acumulado na parte aérea, *C. citriodora* e *E. saligna* evidenciaram acúmulo linear crescente de 65,0 e 31,1% na dose máxima do metal adicionada, enquanto *E. dunnii* e *E. grandis* apresentaram máximo acúmulo na dose estimada de 191,2 e 131,2 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 3C). No sistema radicular todas as espécies apresentaram aumento no Cu acumulado na raiz com o acréscimo nas doses (Figura 3D).

O fato do cobre estar fortemente ligado à parede celular das raízes ocasiona uma translocação lenta para a parte aérea (KABATA-PENDIAS, 2011), podendo a sua mobilidade aumentar com o aumento do contaminante no solo (CHAVES et al., 2010). Com isso, podem ser consideradas espécies com melhor capacidade de crescimento frente a áreas com contaminação por cobre pelo fato de possuírem menor capacidade de translocar o metal para a parte aérea. Plantas com capacidade de acumular maior quantidade de metais no sistema radicular, em relação à parte aérea, são consideradas espécies com tolerância à absorção dos metais (GARBUSU; ALKORTA, 2001). O Cu acumulado na raiz foi superior em relação à parte aérea em todas as espécies, demonstrando uma característica importante de plantas tolerantes, pois tem maior capacidade de acumular metais pesados no sistema radicular e menor para translocar para a parte aérea. Considerando isto, verifica-se que as espécies têm como mecanismo de tolerância ao contaminante o acúmulo no sistema radicular, destacando-

se *E. saligna* e *E. citriodora* com maior acúmulo.

Figura 3 – Equações de regressão para o teor de cobre na parte aérea CuPA (A) e radicular CuR (B), cobre acumulado na parte aérea CuAPA (C) e radicular CuAR (D) de mudas de *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo contaminado com cobre

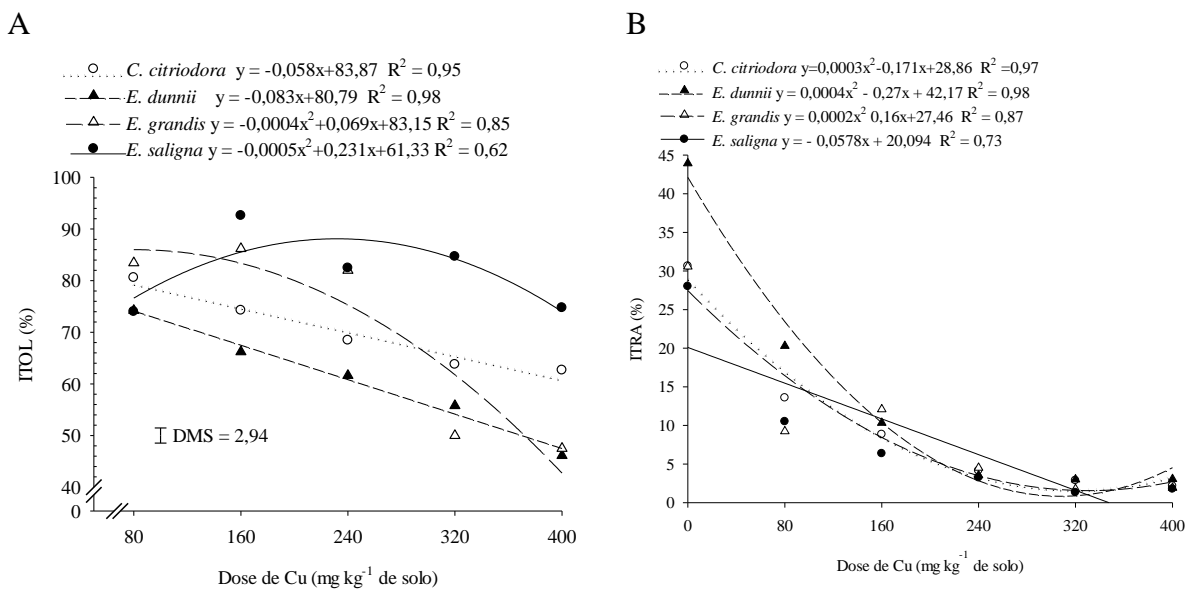


\*DMS: diferença mínima significativa do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: Autor (2017).

O índice de translocação e de tolerância de cobre apresentaram interação significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as espécies de eucalipto e as doses do metal aplicadas no solo (Figura 4). As equações de regressão mostraram redução do índice de translocação de cobre com modelos de ordem quadrática em *C. citriodora*, *E. dunnii* e *E. grandis*, apresentando redução mais acentuada com as doses do metal aplicado no solo em comparação com *E. saligna*, que

apresentou redução constante em todas as doses do metal (Figura 4A). No caso de *E. saligna* o índice de translocação foi mais baixo nas menores doses do metal aplicadas no solo, indicando que esta espécie apresenta estruturas que reduzem o efeito do contaminante no sistema radicular, a fim de evitar concentrações que podem ser tóxicas na parte aérea, pois quanto mais baixo ou próximo a zero o índice de translocação, maior a probabilidade de sobrevivência e crescimento da espécie em ambiente contaminado (BRANZINI et al., 2012), fator importante quando se busca plantas para fins de fitoestabilização do metal.

Figura 4 - Equações de regressão para índice tolerância Itol (A) e índice de translocação Itra (B) de mudas de *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo contaminado com cobre



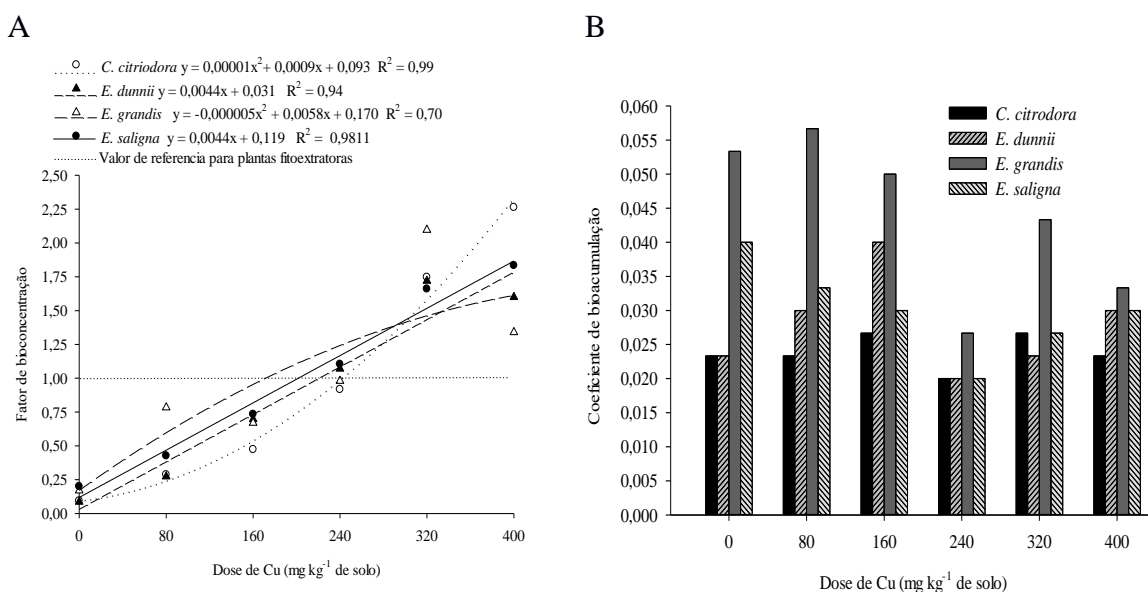
DMS: Diferença mínima significativa do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: autor (2017).

O índice de tolerância foi reduzido linearmente com as doses de cobre aplicadas no solo nas mudas de *C. citriodora* e *E. dunnii*, com valores de 28 e 41% na dose máxima do metal aplicado no solo, respectivamente, e induziram resposta quadrática com ponto de máxima na dose estimada de 86,3 e 231  $\text{mg kg}^{-1}$  para o *E. grandis* e *E. saligna*, respectivamente (Figura 4B). A capacidade de plantas serem tolerantes a metais pesados se deve à presença de mecanismos que a permitem sobreviver em solos em que outras plantas apresentariam toxidez acima da tolerada (MACNAIR et al., 2000). Naturalmente algumas espécies vegetais desenvolveram tolerância ou resistência a metais pesados por apresentarem um complexo mecanismo de homeostase que possibilita o desenvolvimento desses vegetais, controlando a absorção, acúmulo e translocação de metais no vegetal (SANTOS et al., 2006).

Na escala de classificação conforme o índice de tolerância, uma espécie é considerada tolerante quando o Itol é superior a 60%, moderado entre 60 e 35% e sensível quando inferior a 35% (LUX et al. 2004). Conforme os dados obtidos as espécies *C. citriodora* e *E. saligna* foram consideradas tolerantes até a dose máxima estudada e as espécies *E. dunnii* e *E. grandis* até a dose de 240 mg kg<sup>-1</sup>.

O fator de bioconcentração foi superior ou próximo a uma unidade a partir da dose de 240 mg kg<sup>-1</sup> de cobre adicionada ao solo para *E. grandis*, *E. saligna*, *E. dunnii* e *C. citriodora* (Figura 5A). Plantas que apresentam o fator de bioconcentração maior que uma unidade pode ser recomendada para fitoextração de contaminantes do solo (MCGRATH; ZHAO 2003). Neste caso, *E. grandis*, *E. saligna*, *E. dunnii* e *C. citriodora* podem ser utilizadas para fitoextração de cobre do solo em áreas com teores acima de 240 mg kg<sup>-1</sup>.

Figura 5 – Fator de bioconcentração (A) e coeficiente de bioacumulação (B) das mudas de *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo com doses crescentes de cobre



\*DMS: diferença mínima significativa do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: Autor (2017).

O coeficiente de bioacumulação foi menor que uma unidade para todas as espécies e doses adicionadas (Figura 5B). Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2017) em solo contaminado por Zn, no qual *E. grandis* apresentou valores abaixo do valor classificatório (1,0), apresentando baixa eficiência em translocar metal para a parte aérea. Desse modo, os resultados indicam que *E. grandis*, *E. saligna*, *E. dunnii* e *C. citriodora* têm



baixa capacidade para translocar cobre para a parte aérea.

Para os parâmetros fluorescência inicial ( $F_0$ ) e fluorescência máxima ( $F_m$ ) a espécie *E. saligna* demonstrou valores menores que *E. grandis*, *E. dunnii* e *C. citriodora* (Tabela 2). Chamamos de fluorescência uma das partes da energia que as plantas absorvem e que é perdida, ou seja, não utilizada para a produção de energia (BAKER; ROSENQVIST, 2004). Na maioria das vezes o valor de  $F_0$  é modificado por estresses ambientais que alteram estruturas dos pigmentos fotossintéticos do PSII (CAMPOSTRINI, 2001). Com isso, podemos dizer que o *E. saligna* foi mais eficiente em aproveitar energia para o PSII.

Tabela 2 – Fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), eficiência quântica máxima PSII ( $F_v/F_m$ ), eficiência efetiva do PSII (YII), taxa de transporte de elétrons (ETR) e dissipação fotoquímica (qP) das mudas de *C. citriodora*, *E. dunnii*, *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo com doses crescentes de cobre

Parâmetro	-----Espécies-----			
	<i>E. saligna</i>	<i>E. grandis</i>	<i>C. citriodora</i>	<i>E. dunnii</i>
$F_0$	107,83 b*	118,17 ab	121,17 ab	142,94 a
$F_m$	494,33 b	469,67 ab	515,22 ab	547,89 a
$F_v/F_m$	0,753 ab	0,743 ab	0,771 a	0,733 b
YII	0,422 a	0,366 b	0,367 b	0,370 b
ETR	50,74 a	43,92 b	43,93 b	44,22 b
qP	0,703 a	0,625 b	0,578 b	0,626 b

\* Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2017).

Para o rendimento quântico do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ), *E. saligna* e *C. citriodora* foram as espécies que obtiveram os melhores valores para este parâmetro. Neste caso podemos relacionar com o crescimento de planta onde estas espécies também foram superiores, demonstrando melhor eficiência do aparato fotossintético. Quando o aparelho fotossintético da planta se apresenta sem danos, os valores de  $F_v/F_m$  devem ficar entre 0,75 e 0,85, porém quando ocorre redução demonstra a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do PSII (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989). A relação  $F_v/F_m$ , pode ser um indicativo de danos no sistema fotossintético causados por algum estresse, uma vez que a redução demonstra a inibição da atividade fotoquímica (PEREIRA et al., 2000). Com isso, as espécies *E. dunnii* e *E. grandis* podem ter sofrido danos no PSII, refletindo também o menor crescimento e desenvolvimento de planta.

Os parâmetros eficiência efetiva do PSII (YII), taxa de transporte de elétrons (ETR) e a dissipação fotoquímica (qP) foram aproximadamente 13% superiores na espécie *E. saligna*

em relação às demais espécies. A redução da dissipação fotoquímica pode ser provocada por uma inativação da transferência de elétrons nos lados doadores e receptores do PSII (YORDANOV et al., 1997). A redução desses parâmetros reflete no efeito do cobre no funcionamento do fotossistema II. Com isso, *E. saligna* foi a espécie que apresentou menor efeito prejudicial dos teores de cobre no solo sobre o PSII.

### 3.6 CONCLUSÕES

As doses de cobre utilizadas reduziram os parâmetros morfológicos das mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora*.

O cobre absorvido pelas mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora* acumulou-se em maior quantidade no sistema radicular.

As espécies *Corymbia citriodora* e *Eucalyptus saligna* foram as que apresentaram o maior índice de tolerância às doses de cobre aplicadas ao solo, sendo recomendadas para cultivo em áreas contaminadas com cobre.

### 3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABICHEQUER, A. D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 21-26, 1998.

ACCIOLY, A. M. A.; SIQUEIRA, J. O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAES, R. F.; ALVAREZ, V. H. V.; SCHAEFER, C. E. G. R. **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: SBCS, 2000. Cap.10, 299-352p.

ANDREAZZA, R. et al. Phytoremediation of vineyard copper-contaminated soil and copper mining waste by a high potential bioenergy crop (*Helianthus annuus* L.). **Journal of Plant Nutrition**, v. 38, p. 1580-1594, 2015.

ANDREAZZA, R. et al. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, p. 127-136, 2013.

ANDREAZZA, R. et al. Bacterial stimulation of copper phytoaccumulation by bioaugmentation with rhizosphere bacteria. **Chemosphere**, v. 81, p. 1149-1154, 2010.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of experimental botany**, v. 55, n. 403, p. 1607-21, 2004.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R. et al. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrument. **Functional Ecology**, v.3, p.497-514, 1989.

BRANZINI, A.; GONZÁLEZ, R. S.; ZUBILLAGA, M. Absorption and translocation of copper, zinc and chromium by *Sesbania virgata*. **Journal of Environmental Management**, v. 102, p. 50-54, 2012.

CAMPOSTRINI, E., 2001. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas**. UFNF, Rio de Janeiro.

CHAIGNON, V.; HINSINGER, P. A. Biotest for evaluating for bioavailability to plants in a contaminated soil. **Journal of environment quality**. Madison –WI, USA, v. 32, p. 824 -833, 2003.

CHAVES, L. H. G. et al. Acúmulo e distribuição de cobre e zinco em mamoneira cultivar BRS Paraguaçu e crescimento da planta. **Engenharia Ambiental**, v.7, p.263-277, 2010.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acesso em: 08 nov. 2016.

DE MARCO, R. et al. Amenizante Orgânico e *Eucalyptus grandis* para fitoestabilização de solo contaminado com cobre. **Floresta e Ambiente** 2017, v. 24, 2017.

DGHAIM, R. et al. Determination of heavy metals concentration in traditional herbs commonly consumed in the United Arab Emirates. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2015, p.1-6, 2015.

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

DOMÍNGUEZ, M. T. et al. Cadmium availability in soil and retention in oak roots: potential for phytostabilization. **Chemosphere**. V. 76, p 480-486, 2009.

FEPAM. **Fundação Estadual de Meio Ambiente do Rio Grande do Sul. Portaria Nº 85/2014. Dispõe sobre o estabelecimento de Valores de Referência de Qualidade (VQR) dos solos para nove elementos químicos naturalmente presentes nas diferentes províncias geomorfológicas/geológicas do estado do Rio Grande do Sul.**

FERREIRA, D. F. SISVAR - **Sistema de análise de variância**. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2011.

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.

GONÇALVES, J. L. M.; BENEDETTI, V. **Nutrição e Fertilização Florestal**, Piracicaba – SP, IPEF, 2005. 427p.

GUO, X. Y. et al. Toxicity and accumulation of copper and nickel in maize plants cropped on calcareous and acidic field soils. **Plant Soil**, v. 333, p. 365–373, 2010.

HUNT, G. A. Effect of styroblock design and cooper treatment on morphology of conifer seedlings. In: TARGET SEEDLING SYMPOSIUM, MEETING OF THE WESTERN FOREST NURSERY ASSOCIATIONS, GENERAL TECHNICAL REPORT RM-200, 1990, Roseburg. **Proceedings...** Fort Collins: United States Department of Agriculture, Forest Service, 1990. p. 218-222.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4. ed. London, Boca Raton: CRC Press, 2011. 534p.

LUX, A. et al. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity. **Physiologia Plantarum**, v. 120, n. 4, p. 537–545, abr., 2004.

MACNAIR, M. R.; TILSTONE, G. H.; SMITH, S. E. The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants. In: TERRY, N.; BANUELOS, G. **Fitorremediação de solo contaminado e água**, p.235-250, 2000.

MAGALHÃES, M. O. L. et al. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, p. 805-812, 2011.

MCGRATH, S.P.; ZHAO, F.-J. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 14, n. 3, p. 277-282, jun., 2003.

MIYAZAWA, M. et al. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. Cap. 2, p. 59-85.

Nachtigall, G. R. et al. Copper concentration of vineyard soils as a function of pH variation and addition of poultry litter. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, p.941-948, 2007.

PEREIRA, W. E. et al. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. **Journal of Plant Physiology**, Oxford, v. 157, p. 513-520, 2000.

ROSSI, V. L.; AMARANTE, C. V. T.; FLEIG, F. D. Crescimento e qualidade de mudas de *Pinus taeda* l. submetidas à poda química de raízes. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 4, p. 435- 442, 2008.

SANTOS, F. S. et al. Mecanismos de tolerância de plantas a metais pesados. In: Fernandes, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: SBCS, 2006. Cap.16, p.420-432.

SANTOS, G. C. G. et al. Vegetable species for phytoextraction of boron, copper, lead, manganese and zinc from contaminated soil. **Scientia Agricola**, v.67, p.713-719, 2010.

SILVA, R. F. et al. Peat influence on Zn tolerance, bioconcentration and bioaccumulation in *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **African Journal of Agricultural Research**, V. 12, n.5, 320-326, 2017.

SILVA, R. F. et al. Influência da contaminação do solo por cobre no crescimento e qualidade de mudas de açoita-cavalo (*Luehea divaricata* Mart. Zucc.) e aroeira-vermelha (*Schinus molle* L.). **Ciência Florestal**, v.21, p.111-118, 2011.

SILVA, R. F. et al. Interferência de doses de cobre no crescimento e na qualidade de mudas de *Bauhinia forficata* Link, *Pterogyne nitens* Tul e *Enterolobium contortisiliquum* Vell. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 647-655, 2016.

TAIZ, L et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6.ed. Porto: Artmed, 2017. 888 p.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Method 3050 B: Acid digestion of sediments, sludges, and soils**. Washington, 1996. 12p.

WILKINS, D. A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root grown. **The New Phytologist**, v. 80, p. 623-633, 1978.

YOON, J. et al. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the Total Environment**, v.368, p.456-464, 2006.

YORDANOV, I. et al. Interactive effect of water deficit and high temperature on photosynthesis of sunflower and maize plants. 1 – Changes in parameters of chlorophyll fluorescence induction kinetics and fluorescence quenching. **Photosynthetica**, Netherlands, v. 33, n. 4, p.391-402, 1997.

## 4 ARTIGO 2 – USO DE COMPOSTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA COMO AMENIZANTE EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE NO CULTIVO DE ESPÉCIES DE EUCALIPTO

### 4.1 RESUMO

O aumento dos teores de cobre no solo nem sempre possibilita o crescimento de espécies florestais, necessitando-se do uso de compostos orgânicos como amenizante da contaminação para reduzir os efeitos tóxicos do metal. O trabalho objetivou determinar o efeito amenizante do composto de água residuária de suinocultura (CARS) à contaminação do solo com cobre e sua influência no crescimento de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial (2 x 6), sendo duas espécies florestais (*Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*) e seis proporções (v:v) de composto de CARS (0 (zero), 10, 20, 30, 40 e 50% ) em solo contaminado com 400 mg de Cu kg<sup>-1</sup> de solo, com oito repetições, conduzido por 120 dias em casa de vegetação. Avaliou-se a altura, o diâmetro do caule, a massa seca da raiz e da parte aérea, a área superficial específica radicular, o índice de qualidade de Dickson, a concentração e o acúmulo de cobre no sistema radicular e na parte aérea, o índice de translocação, o cobre disponível e o cobre na matéria orgânica. O CARS proporcionou maior crescimento e qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis* e maior acúmulo total do metal em *Eucalyptus saligna*, também proporcionou redução da disponibilidade de cobre no solo e aumentou a fração de cobre adsorvida na matéria orgânica. O composto de água residuária de suinocultura pode ser utilizado para fins de amenizar os efeitos tóxicos do cobre às plantas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*.

**Palavras-chave:** Metais pesados. Composto orgânico. Metais pesados. Espécies exóticas.

### 4.2 ABSTRACT

The increase of copper levels in the soil does not always allow the growth of forest species, requiring the use of organic compounds as a source of contamination to reduce the toxic effects of the metal. The objective of this study was to determine the ameliorating effect of swine wastewater compost to soil contamination with copper and its influence on the growth of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus saligna*. Was using a completely randomized design in a factorial arrangement (2 x 6), two forest species (*Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*) and Six proportions (v:v) of swine wastewater compost (0 (zero), 10, 20, 30, 40, 50%), in soil contaminated with 400 mg of Cu kg<sup>-1</sup> of soil, with eight replications, conducted for 120 days in a greenhouse. We evaluated the height, stem diameter root and shoot dry weight, the levels and the cumulative amount of copper in roots and shoots, the specific root surface area, the quality scores Dickson, the concentration he levels and the cumulative amount of copper in roots and shoots, translocation scores, available copper and copper in organic matter. The swine wastewater compost provides higher growth and quality of *Eucalyptus grandis* seedlings, and higher total metal accumulation in *Eucalyptus saligna*. It also reduces the availability of copper in the soil and increases the fraction of copper adsorbed to organic matter. The swine wastewater compost can be used to ameliorate the toxic effects of copper on *Eucapiltus grandis* and *Eucalyptus saligna*.

**Key-word:** Heavy Metals, Organic Compound. Heavy Metals. Exotic Species.

### 4.3 INTRODUÇÃO

As atividades desenvolvidas pelo homem têm gerado resíduos contendo elementos com potencial poluidor e que induzem impacto negativo ao meio ambiente. Áreas contaminadas com metais pesados refletem um problema ambiental bem conhecido, particularmente em regiões de áreas agrícolas abandonadas e de extração de minérios (SACRISTÁN et al., 2016). A expansão e desenvolvimento das atividades agrícolas tem resultado em problemas ambientais em decorrência da geração de resíduos contendo elementos tóxicos (JORIS et al., 2012). Nesse sentido, o cobre é um elemento inorgânico que quando presente no solo em altas concentrações em que as plantas não se desenvolvam, é considerado um dos principais metais pesados poluentes do solo (ANDREAZZA et al., 2010).

O uso de espécies fitorremediadoras se torna uma alternativa para a recuperação das áreas contaminadas. A utilização de plantas para fins de fitorremediação de solo contaminado com metais pesados é uma técnica capaz de empregar sistemas vegetais fotossintetizantes a fim de reduzir o nível de metais que nele se encontram (CHAVES; SOUZA, 2015). Espécies como timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*) e canafístula (*Peltophorum dubium*) demonstraram tendência de armazenar cobre nas raízes, além de baixa translocação deste para a parte aérea, porém em relação a capacidade de tolerância à contaminação de cobre no solo a timbaúva (*Enterolobium contortisiliquum*) e o angico (*Parapiptadenia rígida*) demonstram maior capacidade que a canafístula (*Peltophorum dubium*) (SILVA et al., 2011).

Em estudos realizados por De Marco et al. (2017) foi verificado que a espécie *Eucalyptus grandis* apresentou maior acúmulo de zinco na raiz, uma característica importante para plantas fitorremediadoras. Desta mesma forma, Souza e Fiorentin (2013) descrevem o *Eucalyptus grandis* como uma espécie de grande produção de biomassa e crescimento rápido, tornando-se uma interessante alternativa para uso em áreas com solo contaminado com metais pesados. A espécie *Eucalyptus urophylla* estudada em solo com altos teores de zinco apresentou maior acúmulo do metal na parte aérea, principalmente no caule, diferente da espécie *Eucalyptus saligna*, que apresentou maior acúmulo total do metal, onde a maior parte ficou retida no sistema radicular (MAGALHÃES et al., 2011). Dentre as espécies que são utilizadas para fins de fitorremediação, as do gênero *Eucalyptus* são uma alternativa viável no processo de fitorremediação de solos contaminados com metais pesados (ALEXANDRE et al., 2012).

Porém, áreas com altas concentrações de metais no solo podem limitar o desenvolvimento e estabelecimento de plantas, tornando-se necessário o uso de amenizantes

associados a esses vegetais. O aumento da matéria orgânica é uma alternativa frente a áreas com excesso de metais pesados no solo, pois pode formar complexos insolúveis com metais pesados, reduzindo a sua disponibilidade às plantas, possibilitando assim o estabelecimento de culturas mesmo em áreas onde a contaminação seja muito prejudicial aos vegetais (SANTOS et al., 2011). A utilização de turfa como material orgânico amenizante em solo contaminado por cobre favorece o crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis*, além de proporcionar maior acúmulo do metal nas raízes, demonstrando assim potencial para fitoestabilização de solo contaminado com cobre (DE MARCO et al., 2017).

Uma alternativa como fonte de matéria orgânica e agente amenizante é o composto de água residuária de suinocultura (CARS), que é um método alternativo de tratamento dos dejetos líquidos, que consiste na fase primária do processo, a mistura com uma cama de serragem ou maravalha que proporciona a absorção e evaporação dos líquidos, e na fase secundária ocorre a fermentação dos dejetos permitindo a maturação do material e a eliminação de microrganismos patogênicos, para em sua fase final ser utilizado como adubo orgânico (PRÁ et al., 2005). Neste contexto, o trabalho objetivou determinar o efeito amenizante do CARS à contaminação do solo com cobre e sua influência no crescimento de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Ciências Agronômicas e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria, *Campus* de Frederico Westphalen, entre os meses de setembro de 2016 e janeiro de 2017. O solo utilizado no experimento foi um Latossolo Vermelho coletado em área agrícola na camada de 0 - 20 cm, cujo atributos químicos estão especificados na Tabela 1, conforme metodologia descrita por Mann e Ritchie (1993) para o cobre trocável (extrator KCl 0,005 mol L<sup>-1</sup>) e por Tedesco et al. (1995) para os demais elementos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (2 x 6), sendo duas espécies florestais (*Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*) e seis proporções (v:v) de amenizante, sendo os volumes contaminados com 400 mg de Cu kg<sup>-1</sup> de solo (0 (zero), 10, 20, 30, 40 e 50%), com oito repetições.



Tabela 1 – Teores disponíveis e totais de nutrientes no solo e no composto de água residuária de suinocultura (CARS) utilizado para o desenvolvimento das mudas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*

	Ca	Mg	N	P	K	Cu
-----Teores disponíveis (mg dm <sup>-3</sup> )-----						
Solo	1020	384	-	6,5	126,5	12,73
CARS	2540	1309	70	1683,7	1584	41,7
-----Teores totais (g dm <sup>-3</sup> )-----						
CARS	95,8	4,2	14,2	8,8	39,6	-

\*Composto de água residuária de suinocultura. Fonte: Autor (2017).

As sementes das espécies de eucalipto foram fornecidas pelo Centro de Pesquisas Florestais da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), unidade de Santa Maria, RS. A semeadura foi realizada em sementeiras e quando as mudas apresentaram um par de folhas definitivas, foram transplantadas para sacos plásticos de polietileno com capacidade volumétrica de 1.000 cm<sup>3</sup>, considerando cada saco plástico, seu conteúdo de substrato e uma muda, como uma unidade experimental (UE).

A dose de cobre foi aplicada 30 dias antes do transplante das mudas na forma de solução de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), sendo diluída em 50 ml de água destilada para possibilitar homogeneização no solo por agitação em saco plástico. No momento do transplante das mudas foi coletada uma amostra do solo em cada tratamento para a determinação dos teores de cobre pseudo-totais, conforme metodologia 3050b descrita em USEPA (1996). Também foi coletada uma amostra de cada tratamento no momento do transplante e ao final do experimento para a determinação dos teores solúveis de cobre no solo e cobre ligado a matéria orgânica, conforme descrito por Mann e Ritchie (1993).

O amenizante orgânico utilizado foi o composto de água residuária de suinocultura (CARS), o qual foi obtido de uma unidade de produção de suínos localizada no município de Rodeio Bonito, na região do Médio Alto Uruguai no estado do Rio Grande do Sul. A unidade de produção de suínos contempla um sistema de ciclo completo que abrange desde a produção de leitões, fase de crescimento e terminação, totalizando 9.800 cabeças.

O sistema de tratamento das águas residuárias desta unidade de produção de suínos foi realizado através da compostagem mecanizada, semelhante à descrita por Serpa et al. (2012), que consiste em galpões cobertos, contendo piso de concreto e partições longitudinais formando oito linhas (leiras de compostagem), por onde ocorre a passagem da máquina de

compostagem, que espalha o dejetos e faz o revolvimento do material. As leiras de compostagem são formadas por adição de serragem (1,2 m de altura) que recebem águas residuárias por tubulações suspensas a cada oito dias em sistema alternado de duas leiras. O revolvimento das leiras é realizado por um sistema de hastes helicoidais, em intervalos de dois dias, incluindo o dia de recebimento da água residuária. Quando ocorre aumento da saturação da serragem pela água residuária é adicionado mais serragem para evitar sítios de anaerobiose.

As amostras do CARS foram coletadas em julho de 2015, em uma leira que estava no estágio final de estabilização (em torno de seis meses). Foram coletados, aleatoriamente, cinco pontos, sendo que em cada ponto o material foi revolvido e homogeneizado. As amostras foram colocadas em sacos plásticos para o transporte e posteriormente secas ao ar, a sombra, sobre o uma lona plástica, por 30 dias.

Antes da implantação do experimento foram caracterizados os atributos químicos do CARS. Os teores totais de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) foram extraídos por meio de digestão com  $H_2SO_4$  concentrado, usando 0,2 g de amostras secas a 65 °C. Os teores disponíveis de P e K foram extraídos pela solução Mehlich-1 ( $H_2SO_4$  0,0125 mol  $L^{-1}$  + HCl 0,05 mol  $L^{-1}$ ) e os teores de N, na forma de amônio (N-NH $_4^+$ ) e de nitrato (N-NO $_3^-$ ), foram extraídos pela solução KCl 1 mol  $L^{-1}$ , usando amostras “in natura” para evitar possíveis perdas, principalmente de N, durante o processo de manuseio e secagem das amostras. A quantificação do N foi por meio de destilação (semi-micro Kjeldahl) e titulação com ácido sulfúrico, o P por espectrofotometria e o K por fotometria de chamas, conforme descritos em Silva (2009).

O experimento foi conduzido por 120 dias após o transplante das mudas. No decorrer deste período foram realizadas irrigações diárias, baseadas na pesagem das unidades experimentais, mantendo-se a umidade a 70 - 80% da capacidade de campo. As fertilizações foram realizadas no transplante das mudas, aplicando o equivalente a 150 g de N, 700 g de  $P_2O_5$  e 100 g de  $K_2O$  por  $m^3$  de solo, e em cobertura utilizando 100 g de N e 30 g de  $K_2O$  diluídos em 10 L de água e aplicados 50 mL por UE. A fertilização após o transplante das mudas foi realizada em três épocas: aos 30 dias, com aplicação de N e K; aos 60 dias, somente N; e aos 90 dias com N e K, seguindo as recomendações de Gonçalves e Benedetti (2005). De forma a atender às exigências do delineamento, semanalmente foi realizado rodízio das UE.

Ao final do experimento foram quantificadas a altura da parte aérea (H), medida com régua graduada de 50 cm do colo das mudas até o ápice caulinar; o diâmetro do colo (DC),

medido com paquímetro digital, com precisão de 0,01 mm; a massa seca do sistema radicular (MSR) e da parte aérea (MSPA), ambos separados na região do colo da muda e secos em estufa a  $60\pm 1^\circ\text{C}$  até massa constante, pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g e calculado a massa seca total (MST) pela soma das MSR e MSPA. Com base nestes parâmetros foi calculado o índice de qualidade de Dickson (IQD) (Dickson, 1960), de acordo com a equação  $\text{IQD} = (\text{MST})/[(\text{H}/\text{DC})+(\text{MSPA}/\text{MSR})]$ . A área superficial específica (ASE) das raízes foi quantificada conforme a metodologia de Tennant (1975).

Após a pesagem, a massa seca da raiz e da parte aérea foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 10 mesh para a determinação dos teores de cobre no tecido vegetal através de digestão nítrico-perclórica (3:1) e determinação em espectrofotometria de absorção atômica, conforme descrito por Miyazawa et al. (2009).

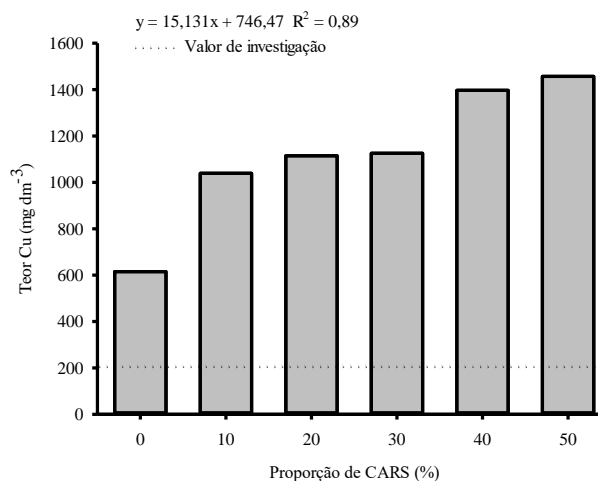
O índice de translocação (ITRA), foi calculado com base na equação  $\text{Itra} = (\text{CuAPA}_{\text{dn}}/\text{CuAT}_{\text{dn}})*100$ , que corresponde à porcentagem total absorvida de cobre que foi transportado para a parte aérea (ABICHEQUER; BOHNEN, 1998).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando apresentaram significância com interação significativa foram submetidos à análise de regressão do fator de variação quantitativo (doses) dentro de cada nível do fator qualitativo (espécies florestais). Para os parâmetros sem interação significativa, foram desdobrados os efeitos simples, sendo as médias do fator qualitativo (espécies florestais) comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro e as médias do fator quantitativo (proporções) submetidos à análise de regressão polinomial pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

#### 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento das proporções de amenizante proveniente de CARS elevou os teores de cobre pseudo-totais no solo (Figura 1). Os valores foram acima dos limites máximos de investigação permitidos pela resolução nº 420, que é de  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  (CONAMA, 2009) e de  $203 \text{ mg kg}^{-1}$  para solos originados de rochas vulcânicas da região do Planalto do estado do Rio Grande do Sul, Brasil (FEPAM, 2014), sendo que com a adição de 10% de CARS atingiu valor superior a  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ . Desse modo, os valores de cobre presente no solo superaram o limite de investigação para áreas agrícolas, pelo fato do amenizante CARS ter o cobre em sua constituição.

Figura 1 – Teores pseudo-totais de cobre no solo em função das proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS) aplicadas como amenizante no solo contaminado com 400 mg de Cu kg<sup>-1</sup> de solo



Fonte: Autor (2017).

A análise de variância evidenciou interação significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as espécies estudadas e as proporções de composto aplicadas no solo para os parâmetros altura de planta, diâmetro de colo, massa seca da parte aérea e radicular, área superficial específica da raiz e índice de qualidade de Dickson (Figura 2). A altura de planta e o diâmetro de colo foram beneficiados com o aumento das proporções do amenizante (Figura 2A e 2B). Os dados demonstraram efeito quadrático positivo para a altura de planta, apresentando como ponto de máxima, ou seja, estimativa da maior altura das plantas, quando usados 40 e 42% do composto para *E. grandis* e *E. saligna*, atingindo a altura de 73 e 70 cm de altura, respectivamente.

O diâmetro de colo aumentou com o incremento das proporções do composto, no qual os dados apresentaram efeito quadrático positivo, apresentando ponto de máxima eficiência nas proporções estimadas de 33 e 38% para *E. grandis* e *E. saligna*, respectivamente. Resultados com uso de material orgânico na forma de turfa indicam maior altura e diâmetro de colo em mudas de *E. grandis* em solo contaminado com cobre (DE MARCO et al., 2017).

A massa seca da parte aérea de *E. grandis* foi estatisticamente superior, com ponto de máxima eficiência na proporção de 44,5% de amenizante com valor de 8,11 g (Figura 2C). A espécie *E. saligna* apresentou ponto de máxima na proporção estimada de 46% chegando a 7,26 g, enquanto a massa seca radicular apresentou ponto de máxima eficiência na proporção de 49,5% de amenizante para *E. grandis* e 47% para *E. saligna* (Figura 2C; 2D). Na ausência

do amenizante se observa que ambas as espécies apresentaram os menores valores em relação aos tratamentos com o uso do CARS como amenizante. Solo com excesso de cobre causa danos ao sistema radicular e à parte aérea, provocando distúrbios na estrutura das proteínas e inibição do alongamento celular induzida pelo aumento na permeabilidade da membrana plasmática e lignificação da parede celular, resultando na redução do desenvolvimento das plantas (YRUELA, 2013). Com isso, se torna evidente que o uso de compostos orgânicos proporciona maior acúmulo de matéria seca e desenvolvimento de planta porque reduz o Cu disponível na solução do solo.

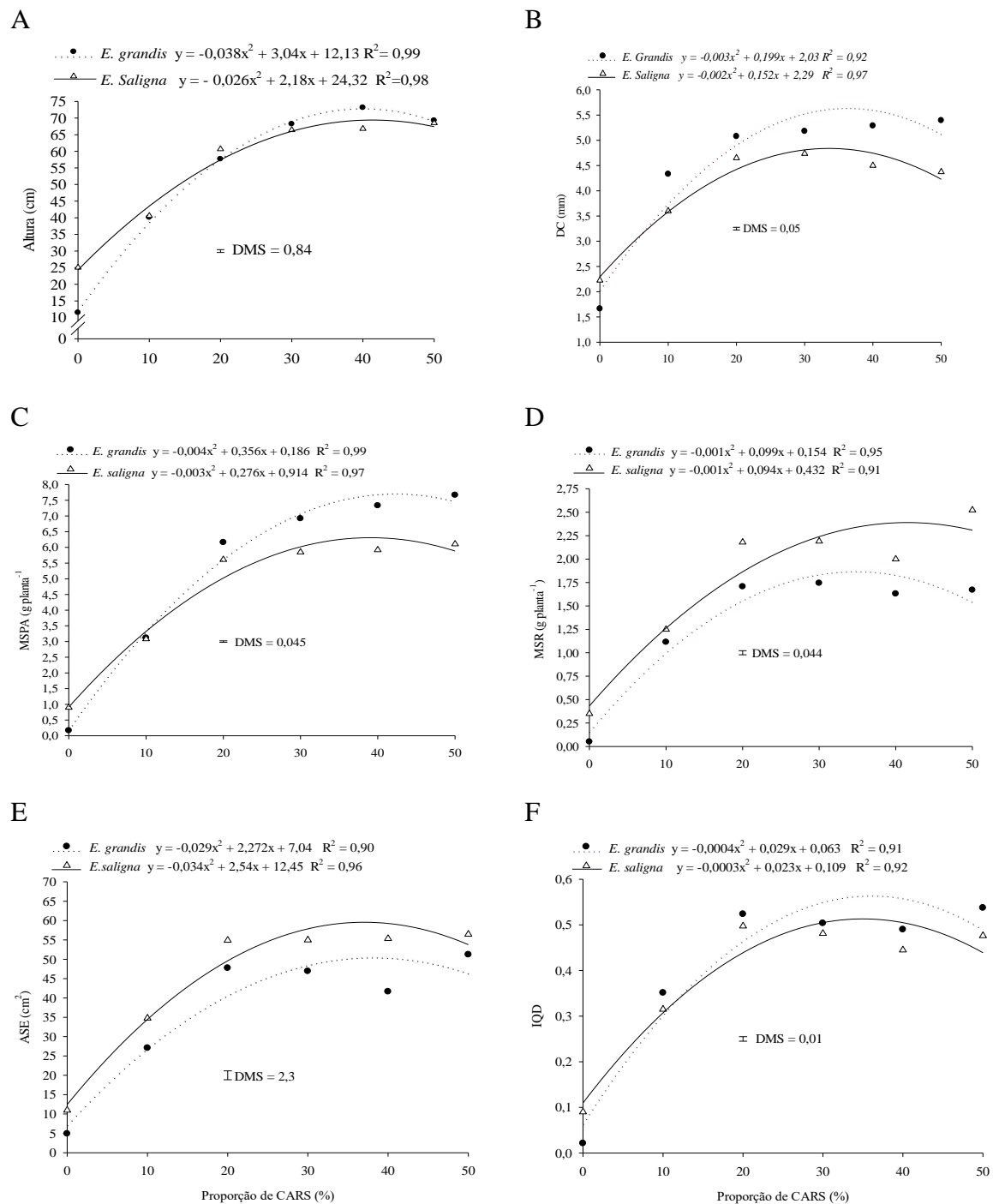
A área superficial específica da raiz apresentou aumento com ajuste de equações de ordem quadrática com ponto de máxima para ambas as espécies na proporção estimada de 39% de amenizante para *E. grandis* e 37% para *E. saligna* (Figura 2E). A toxidez de cobre no sistema radicular se manifesta pela redução de formação de raízes e com isso afeta a capacidade de absorção de água e nutrientes essenciais ao desenvolvimento da planta (TAIZ; ZEIGER, 2013). Portanto, a utilização de amenizante proporciona maior área superficial específica da raiz e conseqüente maior exploração do volume de solo em busca de água e nutrientes.

O IQD foi aumentado com o uso de amenizante, com resposta quadrática e ponto de máxima eficiência na proporção estimada de 36,2% para *E. grandis* e 38,3% para *E. saligna* (Figura 2F), sendo que com 20% de CARS obteve-se índices acima de 100%. Com o uso de CARS como amenizante fica evidenciado que ambas as espécies apresentaram índice considerado adequado para este parâmetro, pois estando acima de 0,20 indica melhor padrão de qualidade de mudas (HUNT, 1990). Com isso, o uso de amenizante proporciona melhor qualidade de mudas.

Os teores de cobre na parte aérea e radicular das mudas de eucalipto foram superiores para o tratamento sem adição de CARS, apresentando redução quadrática com o aumento das proporções do amenizante (Figura 3A; 3B). Na parte aérea *E. grandis* apresentou redução de 62% no teor de Cu na proporção estimada de CARS de 36%, e *E. saligna* apresentou redução de 50% na proporção de CARS de 44,6%. Na raiz *E. grandis* apresentou redução de 100% no teor na proporção estimada de 32%, e *E. saligna* reduziu 85% o teor na proporção estimada de 35,5% de CARS. Esses resultados corroboram com os obtidos por De Marco et al. (2017), trabalhando com mudas de *E. grandis* em solo contaminado com cobre, no qual os maiores teores de cobre na parte aérea e radicular ocorreram no tratamento sem o uso da turfa como amenizante. Geralmente plantas em exposição a altas concentrações de Cu tendem a acumular elevadas quantidades desse contaminante no sistema radicular pelo fato de estar em contato

com o cobre presente no solo (KOPITTKE et al., 2009). Portanto, o uso de amenizante contribui para a redução dos teores de cobre na parte aérea e raiz.

Figura 2 – Altura (A), diâmetro de colo - DC (B), massa seca parte aérea – MSPA (C) e radicular - MSR (D), área superficial específica - ASE (E) e índice de qualidade de Dickson – IQD (F) de mudas de *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo contaminado por cobre e tratado com diferentes proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS)



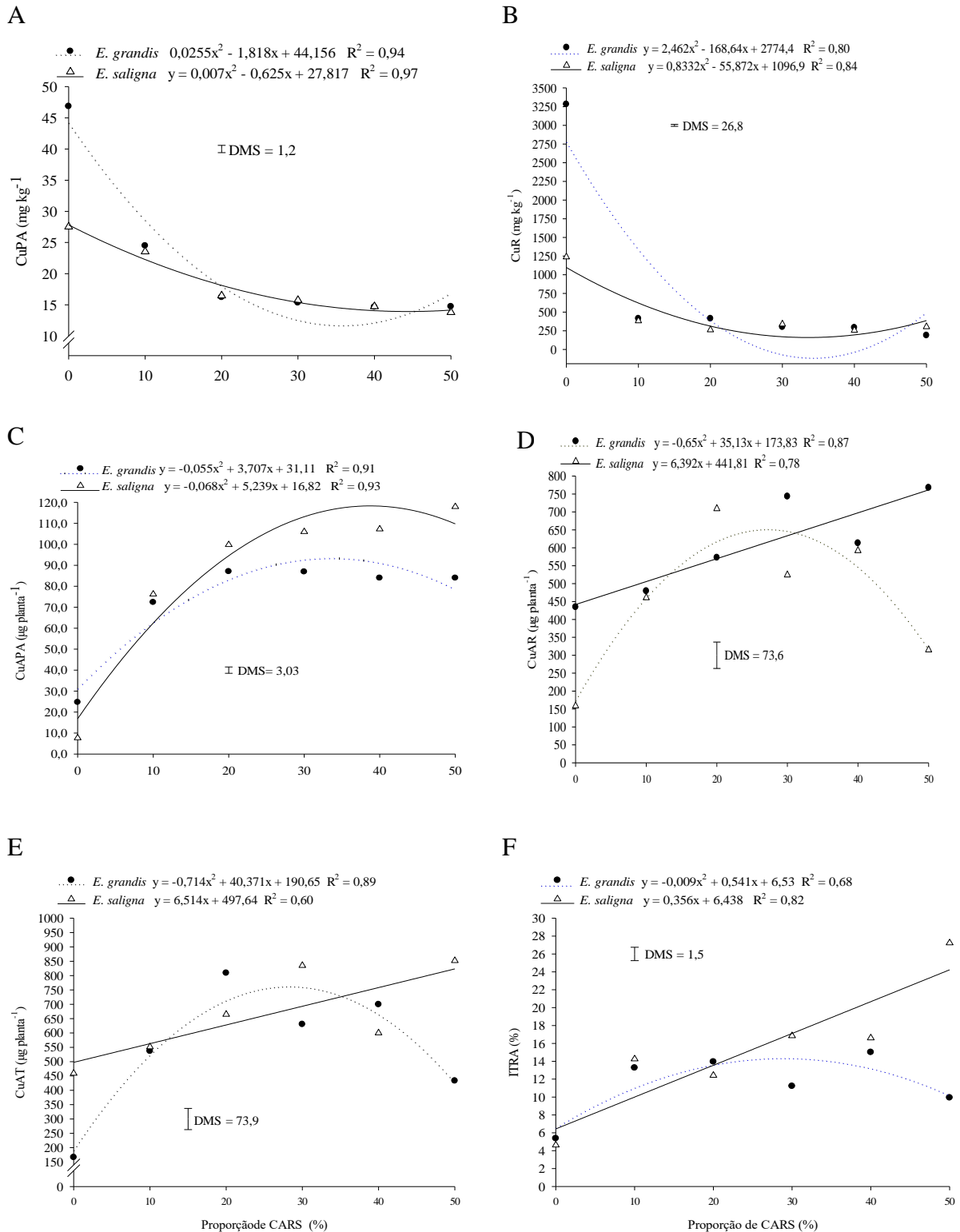
\*DMS: diferença mínima significativa do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: autor (2017)

O máximo de cobre acumulado na parte aérea das mudas de eucalipto foi atingido nas proporções estimadas de amenizante de 34 e 38% para *E. grandis* e *E. saligna*, com acúmulos de 93,6 e 117,73  $\mu\text{g planta}^{-1}$ , respectivamente (Figura 3C), enquanto para o sistema radicular *E. saligna* apresentou aumento linear com acúmulo de 72% na proporção de 50% de amenizante com acúmulo de 761,4  $\mu\text{g planta}^{-1}$  e *E. grandis* apresentou ponto de máximo acúmulo (648,5  $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) na proporção estimada de 27% (Figura 3D). Para o cobre acumulado total houve diferença entre as espécies, sendo que *E. grandis* atingiu máximo acúmulo (764,53  $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) na proporção estimada de CARS de 28% e *E. saligna* teve aumento linear com acúmulo de 65% de Cu (823,64  $\mu\text{g planta}^{-1}$ ) na proporção máxima de amenizante utilizada (Figura 3E). Resultados semelhantes foram encontrados por González et al. (2014), trabalhando com plantas de prímula noturna (*Oenothera picensi*) e composto orgânico como amenizante do efeito tóxico do cobre, no qual observaram maior produção de matéria seca e maior absorção desses metais por essas plantas.

O índice de translocação de cobre nas mudas de eucalipto foi aumentado com o uso de amenizante na espécie *E. grandis*, apresentando aumento até 14% na proporção máxima estimada de CARS de 30% e *E. saligna* aumentou linearmente até atingir 24% de ITRA na proporção máxima de CARS utilizada (Figura 3F). O incremento na massa seca da parte aérea pode ter favorecido a maior translocação do metal para a parte aérea da planta. Esses resultados vão ao encontro dos resultados obtidos por Silva et al. (2017), que trabalhando com turfa como agente amenizante de contaminação por cobre e *E. grandis* como espécie fitorremediadora, constataram maiores valores de ITRA nos tratamentos com uso de amenizante. Com isso, o uso de amenizante contribui para o aumento do índice de translocação em mudas de *E. grandis* e *E. saligna*.

O teor de cobre disponível no solo reduziu linearmente com o aumento da proporção de amenizante (Figura 4A). Ao final do experimento essa redução foi ainda maior, pelo fato do metal se ligar fortemente a matéria orgânica. A adição de amenizante pode diminuir a disponibilidade de metais pesados por aumentar as formas complexadas ou quelatadas à matéria orgânica com consequente redução das formas trocáveis (KABATA-PENDIAS, 2011), e pela afinidade que o metal possui pelos sítios de sorção da matéria orgânica (TIECHER et al., 2013). Desta forma, a adição de amenizante reduz significativamente a disponibilidade de cobre no solo.

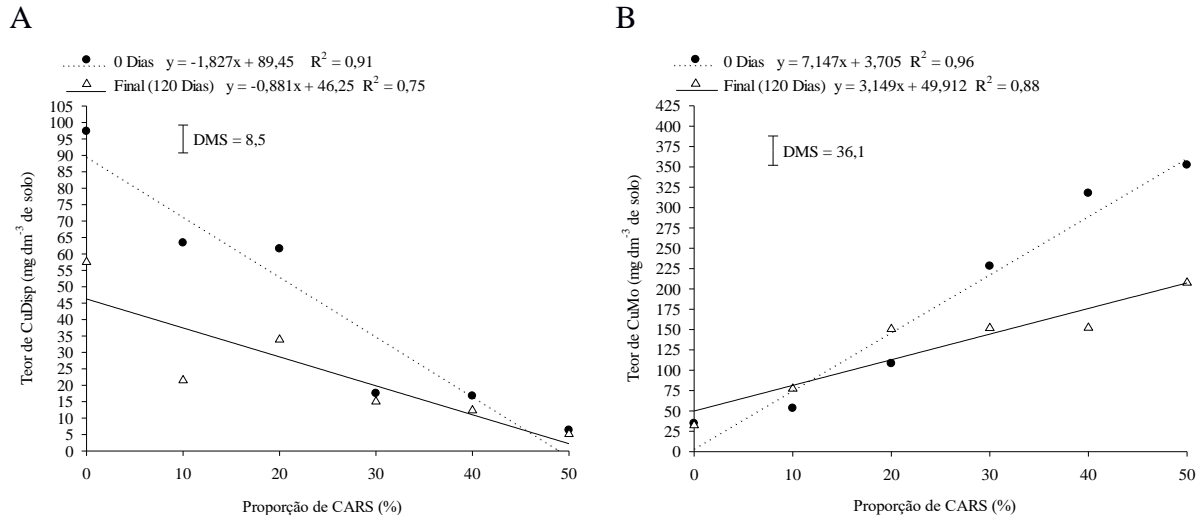
Figura 3 – Teores de cobre na parte aérea CuPA (A) e raiz CuR (B), cobre acumulado na parte aérea CuAPA (C) e radicular CuAR (D), cobre acumulado total CuAT (E) e índice de translocação ITRA (F) em mudas de *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo contaminado com cobre em diferentes proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS)



\*DMS: diferença mínima significativa do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: Autor (2017).



Figura 4 – Equações de regressão para Teor de cobre disponível no solo - CuDisp (A) e teor de cobre retido na matéria orgânica - CuMO (B) no cultivo de mudas de *E. grandis* e *E. saligna* cultivadas em solo contaminado com cobre em diferentes proporções de composto de água residuária de suinocultura (CARS)



\*DMS: diferença mínima significativa do teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Fonte: Autor (2017).

O teor de cobre na matéria orgânica aumentou linearmente com a adição de composto no solo (Figura 4B). A utilização de compostos orgânicos reduz a biodisponibilidade de metais através da adsorção e reações de complexação, reduzindo a sua disponibilidade para absorção pelas plantas e perdas por lixiviação (PARK et al., 2011). Portanto a adição de matéria orgânica em solo contaminado possibilita a redução da disponibilidade de metais para as plantas, proporcionando maior crescimento e desenvolvimento.

#### 4.6 CONCLUSÕES

O composto de água residuária de suinocultura usado apresenta potencial amenizante proporcionando maior crescimento, acúmulo de cobre e de mudas das espécies *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*.

A adição de composto de água residuária de suinocultura ao solo proporciona redução da disponibilidade de cobre no solo e aumenta a fração de cobre adsorvida a matéria orgânica.

O composto de água residuária de suinocultura pode ser utilizado para fins de amenizar os efeitos tóxicos do cobre as plantas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*.

#### 4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABICHEQUER, A. D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 21-26, 1998.

ALEXANDRE, J. R. et al. Zinco e ferro: de micronutrientes a contaminantes do solo. **Natureza on line**, v. 10, n. 1, p. 23–28, 2012.

ANDREAZZA, R. et al. Chemosphere Bacterial stimulation of copper phytoaccumulation by bioaugmentation with rhizosphere bacteria. **Chemosphere**, v. 81, n. 9, p. 1149–1154, 2010.

CHAVES, H. L. G.; SOUZA, R. S. DE. Fitoextração de cobre e zinco de um Neossolo Quartzarênico contaminado com metais pesados. **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 4, p. 396–403, 2015.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acesso em: 15ja n. 2017.

DE MARCO DE, R. et al. *Senna multijuga* e turfa em fitoestabilização do cobre em solo contaminado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, p. 421–426, 2017.

DE MARCO, R. et al. Amenizante Orgânico e *Eucalyptus grandis* para Fitoestabilização de Solo Contaminado com Cobre. **Floresta e Ambiente** 2017, v. 8087, 2017.

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

FEPAM. Fundação Estadual de Meio Ambiente do Rio Grande do Sul. Portaria Nº 85/2014. Dispõe sobre o estabelecimento de Valores de Referência de Qualidade (VQR) dos solos para nove elementos químicos naturalmente presentes nas diferentes províncias geomorfológicas/geológicas do estado do Rio Grande do Sul.

GONÇALVES, J. L. M.; BENEDETTI, V. **Nutrição e Fertilização Florestal**, Piracicaba – SP, IPEF, 2005. 427p.

GONZÁLEZ, I. et al. Chemosphere Effect of compost and biodegradable chelate addition on phytoextraction of copper by *Oenothera picensis* grown in Cu-contaminated acid soils. **Chemosphere**, v. 95, p. 111–115, 2014.

HUNT, G. A. Effect of styroblock design and copper treatment on morphology of conifer seedlings. **Western Forest Nursery Association**, p. 218–222, 1990.

JORIS, H. A. W. et al. Adsorção de metais pesados após calagem superficial em um Latossolo Vermelho sob sistema de plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 1–10, 2012.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4. ed. London, Boca Raton: CRC Press, 2011. 534p.

MAGALHÃES, M. O. L. et al. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 3, p. 805–812, 2011.

MANN; RITCHIE, P. G. S. P. Influence of pH on on the the Forms Forms of Cadmium in Four West Australian Australian Soils. **Australian Journal of Soil Research**, v. 31, p. 255–270, 1993.

MIYAZAWA, M. et al. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. Cap. 2, p.59- 85.

PARK, J. H. et al. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 2–3, p. 549–574, 2011.

PRÁ, M. A. D.; KONZEN, E. A.; MORES, P. A. O. E. Compostagem de dejetos líquidos de suínos. **Embrapa Milho e Sorgo**. 1a edição ed., p.25, 2005. Sete Lagoas, MG.

SACRISTÁN, D.; VISCARRA, R. A.; RECATALÁ, L. Geoderma Proximal sensing of Cu in soil and lettuce using portable X-ray fluorescence spectrometry. **Geoderma**, v. 265, p. 6–11, 2016.

SERPA, R. et al. Compostagem de dejetos de suínos. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 6, n. 1, p. 47–78, 2012.

SILVA, R. F. et al. Comportamento de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong cultivadas em solo contaminado com cobre. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 1, p. 103–110, 2011.

SILVA, R. F. et al. Peat influence on Zn tolerance, bioconcentration and bioaccumulation in *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 5, p. 320–326, 2017.

SOUZA, J. T. DE; FIORENTIN, L. D. Quantificação da biomassa e do carbono em povoamento de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex maiden, em Santa Maria, RS. **Unoesc & Ciência**, v. 4, n. 2, p. 253–262, 2013.

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

TIECHER, T. L. et al. Forms and accumulation of copper and zinc in a sandy typic hapludalf soil after long-term application of pig slurry and deep litter. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 3, p. 812–824, 2013.

YRUELA, I. Transition metals in plant photosynthesis. **Metallomics**, v. 5, p. 1090–1109, 2013.

## 5 ARTIGO 3 – COMPOSTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DE SUINOCULTURA E MICORRIZAS ARBUSCULARES NO CRESCIMENTO E ACÚMULO DE COBRE EM *Eucalyptus grandis*

### 5.1 RESUMO

O uso de amenizante orgânico e fungos micorrízicos arbusculares associados a plantas pode ser uma alternativa para revegetação de solos contaminados com cobre. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi determinar a influência do uso conjugado de fungos micorrízicos arbusculares e composto de água residuária de suinocultura (CARS) no crescimento e acúmulo de cobre em *Eucalyptus grandis* cultivado em solo contaminado com cobre. O trabalho foi conduzido em casa de vegetação por 120 dias, utilizando delineamento experimental inteiramente casualizado em arranjo fatorial (2 x 3), sendo sem e com adição de 40% CARS (v:v) e três tratamentos de inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (sem fungo, com *Gigaspora margarita* (GM), ou com *Aucalospora colombiana* (AC)), totalizando 6 tratamentos com oito repetições, em solo ou solo+CARS previamente contaminado com 400 mg kg<sup>-1</sup> de cobre. Avaliou-se a altura das mudas, diâmetro do colo, massa seca radicular e aérea, os teores e a quantidade acumulada de cobre no sistema radicular e na parte aérea, o índice de qualidade de Dickson e de translocação, a eficiência relativa dos tratamentos na altura de planta e o percentual de colonização micorrízica. Os resultados demonstraram que a adição de CARS com inóculo de fungos micorrízicos arbusculares *Gigaspora margarita* aumenta os parâmetros morfológicos e a qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com cobre. O acúmulo de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis* é maior com a inoculação do fungo *Gigaspora margarita* e reduzido com a adição de CARS.

**Palavras-chave:** Composto orgânico. Amenizante. Metais pesados. Fungos micorrízicos.

### 5.2 ABSTRACT

The use of organic softeners and arbuscular mycorrhizal fungi associated with plants may be an alternative for revegetation of soil contaminated with copper. Thus, the aim of this study was to determine the influence of the conjugated use of arbuscular mycorrhizal fungi and swine wastewater in the growth and accumulation of copper in *Eucalyptus grandis* cultivated in soil contaminated with copper. The work was conducted in a greenhouse for 120 days, using a completely randomized design in a factorial arrangement (2 x 3), without and with added of 40% Swine wastewater compost (v:v) and three inoculation treatments of arbuscular mycorrhizal fungi (without fungi, with *Gigaspora margarita*, or with *Aucalospora colombiana*, totaling six treatments with eight replicates, in a substrate previously contaminated with 400 mg kg<sup>-1</sup> of copper. We evaluated the seedling height, stem diameter, root and shoot dry weight, the levels and the cumulative amount of copper in roots and shoots, the quality scores Dickson and translocation, the relative efficiency of treatments at plant height and the percentage of mycorrhizal colonization. The results showed that the addition of swine wastewater compost with inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi *Gigaspora margarita* increases the morphological parameters and qualities seedlings of *Eucalyptus grandis* cultivated in soil contaminated with copper. The accumulation of copper in *Eucalyptus grandis* seedlings is higher with the inoculation of the fungus *Gigaspora margarita* and reduced with the addition of CARS.

**Key words:** Organic compost. Softening. Heavy metals. Mycorrhizal fungi.

### 5.3 INTRODUÇÃO

A contaminação do solo por metais pesados, como o cobre, está se intensificando por meio das atividades antrópicas, as quais são oriundas da indústria, da urbanização e da agricultura, causando impactos ao meio ambiente (ANDREAZZA et al., 2010). No Brasil, especificamente no Estado do Rio Grande do Sul, encontram-se áreas com altos teores de cobre, principalmente nas cultivadas com videiras devido à aplicação de fungicidas contendo cobre em sua composição (MIOTTO et al., 2014). Apesar do cobre ser um elemento traço, a toxicidade desse metal se tornou um problema em áreas agrícolas e no meio ambiente em decorrência das atividades antrópicas (CORNEJO et al., 2013).

O uso de espécies arbóreas pode ser uma alternativa para remediação de cobre em áreas com altos teores deste metal. Para isso se busca espécies que tenham crescimento rápido e elevada produção de biomassa. Nesse contexto, Souza e Fiorentin (2013) ressaltam que a espécie *Eucalyptus grandis* com características interessantes no que se refere ao seu crescimento rápido e elevada produção de biomassa, o que a torna uma planta atrativa para utilização em áreas contaminadas com metais pesados. Além disso, *Eucalyptus grandis* pode ser usado para fitoestabilização de solo contaminado com cobre por causa da elevada capacidade de acúmulo deste metal em suas raízes (DE MARCO et al., 2017).

A utilização de compostos orgânicos como amenizantes pode auxiliar no estabelecimento de plantas em solo com altos teores de metais. O composto de água residuária de suinocultura (CARS) é uma forma alternativa de matéria orgânica, ainda pouco estudada como amenizante de metais pesados no solo. Esse composto é produzido a partir da mistura dos dejetos líquidos de suínos com cama de serragem ou maravalha, que após a fermentação dos dejetos, com consequente maturação do material e eliminação de microrganismos patogênicos, pode ser utilizado como adubo orgânico (PRÁ et al., 2005).

A pesquisa tem evidenciado que o uso de dejetos líquidos de suínos e palha na produção de composto resulta em um fertilizante com alto valor nutricional (SEDIYAMA et al., 2000), bem como o uso de composto orgânico na forma de turfa possibilita efeito amenizante no solo e beneficia o crescimento e desenvolvimento de mudas de *Eucalyptus grandis* em solo contaminado com cobre (DE MARCO et al., 2017). Desse modo, é possível que o CARS proporcione plantas de melhor qualidade, pela sua constituição nutricional e efeito amenizante pela sua característica de fonte de matéria orgânica.

Os microrganismos do solo, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) podem ser uma alternativa para auxiliar o crescimento de plantas em áreas com excesso de metais

pesados, reduzindo o estresse ocasionado por estes elementos. Os FMAs podem ser utilizados em áreas em processo de revegetação por proporcionar às plantas maior tolerância a metais pesados (LINS et al., 2007). Além de favorecer o crescimento de plantas, os fungos micorrízicos arbusculares melhoram a absorção de nutrientes essenciais e reduzem estresses bióticos e abióticos causados aos vegetais (ROSSETO et al., 2012). Isso ocorre pela presença de mecanismos que possibilitam alterar a biodisponibilidade desses elementos no ambiente micorrizosférico, controlando a absorção das raízes, e também mecanismos que protegem as plantas desses contaminantes (FERREIRA et al., 2016), como a própria colonização do córtex da raiz, desenvolvendo um micélio que envolve as raízes das plantas (CORNEJO et al., 2013).

O efeito indesejado de alguns substratos na produção de mudas em função de altos níveis de metais pesados interfere no crescimento de plantas, sendo o uso de inóculos de fungos micorrízicos arbusculares uma alternativa para um melhor aproveitamento desses substratos pelos vegetais (FONSECA et al., 2010). Nesse sentido, as micorrizas promoveram a redução nos teores de metais na parte aérea de *Brachiaria decumbens* amenizando a toxicidade dos metais pesados, favorecendo o crescimento e maior extração de metais pesados do solo e acumulando no sistema radicular (SILVA et al., 2006). A fitoestabilização com uso de *Canavalia ensiformis* em um solo contaminado com cobre aumentou com a adição de vermicomposto e inóculo do fungo *Rhizophagus clarus*, sendo que este fungo tem potencial para ser utilizado na fitoestabilização de solos arenosos contaminados com cobre (SANTANA et al., 2015). Apesar dos estudos com fungos micorrízicos ainda não elucidarem os mecanismos fisiológicos e bioquímicos que beneficiam as plantas micorrizadas na tolerância a estresses abióticos, é possível também que uma das razões seja a melhoria do estado nutricional das plantas pelo aumento da absorção de nutrientes (KAFKAS; ORTAS, 2009).

Com isso, a adição de composto de água residuária de suinocultura e de fungos micorrízicos arbusculares através de suas especificidades pode proporcionar às plantas melhor crescimento e desenvolvimento em áreas contaminadas com metais pesados. Nesse contexto, o trabalho objetivou determinar a influência do uso conjugado de fungos micorrízicos arbusculares e composto de água residuária de suinocultura no crescimento e acúmulo de cobre em *Eucalyptus grandis* cultivado em solo contaminado com cobre.

#### 5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Ciências Agronômicas e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria *Campus* de Frederico Westphalen entre os meses de janeiro e maio de 2017. O solo utilizado no experimento foi um Latossolo Vermelho coletado em área agrícola na profundidade de 0 - 20 cm, cujos atributos químicos estão especificados na Tabela 1, conforme metodologia descrita por Mann e Ritchie (1993) para o cobre trocável (extrator KCl 0,005 mol L<sup>-1</sup>) e Tedesco et al. (1995) para os demais elementos.

Tabela 1 – Teores disponíveis e totais de nutrientes no solo e no composto de água residuária de suinocultura (CARS) utilizado para o desenvolvimento das mudas de *Eucalyptus grandis*

	Ca	Mg	N	P	K	Cu
	-----Teores disponíveis (mg dm <sup>-3</sup> )-----					
Solo	1020	384	-	6,5	126,5	12,73
CARS	2540	1309	70	1683,7	1584	41,7
	-----Teores totais (g dm <sup>-3</sup> )-----					
CARS	95,8	4,2	14,2	8,8	39,6	-

Fonte: Autor (2017).

As sementes da espécie de eucalipto foram fornecidas pelo Centro de Pesquisas Florestais da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), unidade de Santa Maria, RS. As sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 5%, por 20 minutos e lavadas em água corrente por 5 minutos, semeadas em sementeira com substrato esterilizado em autoclave com temperatura de 121°C em 3 ciclos de 30 minutos, e quando as mudas apresentaram um par de folhas definitivas foram transplantadas para sacos plásticos de polietileno com capacidade volumétrica de 1.000 cm<sup>3</sup>, considerado cada saco plástico, com 1.000 cm<sup>3</sup> de substrato e uma muda, como uma unidade experimental (UE).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (2 x 3), sendo sem e com adição 40% de composto de água residuária de suinocultura (CARS) (v:v) e três tratamentos de inoculação (sem fungo, com *Gigaspora margarita* – GM, com *Aucalospora colombiana* – AC), totalizando 6 tratamentos com oito repetições, em substrato (solo ou solo+CARS) previamente contaminado com 400 mg kg<sup>-1</sup> de cobre.

A dose de 400 mg kg<sup>-1</sup> de cobre foi aplicada 30 dias antes do transplante das mudas na forma de solução de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), sendo diluída em 50 mL de água destilada para possibilitar homogeneização no solo por agitação em saco plástico. A inoculação dos fungos micorrízicos arbusculares ocorreu por meio dos seus esporos que foram separados previamente em tubos tipo Eppendorfs em número de 30, os quais foram adicionados na raiz no momento do transplante das mudas em cada EU.

O experimento foi conduzido por 120 dias após o transplante das mudas. No decorrer deste período foram realizadas irrigações diárias, mantendo-se a umidade 70 - 80% da capacidade de campo. De forma a atender às exigências do delineamento, semanalmente foi realizado rodízio das UE.

Ao final do experimento quantificou-se a altura da parte aérea (H), medida com régua graduada do colo das mudas até o ápice caulinar; o diâmetro do colo (DC), medido com paquímetro digital; a massa seca do sistema radicular (MSR) e da parte aérea (MSPA), sendo ambos separados na região do colo da muda, secos em estufa a 60±1°C até massa constante e pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g; calculou-se a massa seca total (MST) pela soma das MSR e MSPA. Com base nas variáveis morfológicas, foi determinada a qualidade das mudas por meio do índice de qualidade de Dickson (IQD), utilizando a fórmula proposta por Dickson et al. (1960):  $IQD = MST/[H/DC] + [MSPA/MSR]$ .

Após a pesagem, a massa seca da raiz e da parte aérea foram moídas em moinho tipo Wiley com peneira de malha 10 mesh para a determinação dos teores de cobre no tecido da parte aérea (CuPA) e radicular (CuR), através de digestão nítrico-perclórica (3:1) e determinação em espectrofotometria de absorção atômica, conforme descrito por Miyazawa et al. (2009). Com base nos teores de cobre obtidos na parte aérea e radicular e a massa seca de ambas as partes se calculou o acúmulo de cobre na parte aérea (CuAPA), radicular (CuAR) e o acumulado total (CuAT). O índice de translocação (Itra) foi calculado com base na equação:  $Itra = (CuAPA_{dn}/CuAT_{dn}) * 100$ , que corresponde à porcentagem total absorvida de cobre que foi transportado para a parte aérea (ABICHEQUER; BOHNEN, 1998).

O índice de eficiência relativa da altura foi calculada por meio da equação: utilizando-se a equação:  $[(\text{altura de planta no tratamento } y - \text{altura de planta no tratamento controle}) / \text{altura de planta no tratamento } y] * 100$ .

Para a determinação da porcentagem da colonização micorrízica, as raízes foram submetidas ao processo de clarificação, coloração e preparação de lâminas conforme método proposto por Koske e Gemma (1989). A porcentagem de colonização micorrízica (%CM) foi calculada por meio da equação:  $\%CM = (n^\circ \text{ segmentos colonizados} / n^\circ \text{ de segmentos totais}) \times$



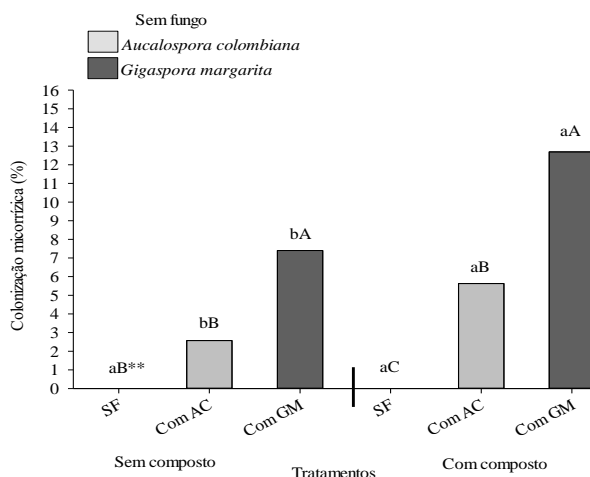
100. Os dados foram tabulados e submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As raízes das plantas nos tratamentos que não receberam inóculo de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) não apresentaram colonização micorrízica (Figura 1). Esse resultado reforça os de Schiavo et al. (2010), que ao trabalharem com inóculo do fungo *Glomus clarum* observaram que as plantas não inoculadas se apresentaram isentas de colonização, demonstrando a eficiência do processo de esterilização do solo utilizado neste trabalho.

Já a adição do CARS favoreceu maior percentual de colonização micorrízica para ambos os fungos utilizados (Figura 1). A adição de matéria orgânica no solo melhora a estrutura do solo, favorece maior retenção de umidade, disponibilidade de nutrientes, atividade microbiana, além de reduzir a disponibilidade de metais pesados devido a sua influência na mobilidade de elementos-traço (SANTOS et al., 2008).

Figura 1 – Porcentagem de colonização micorrízica de mudas de *Eucalyptus grandis* submetidas aos tratamentos sem composto e com composto associados a ausência (SF) ou presença de fungos *Acaulospora colombiana* (Com AC) ou *Gigaspora margarita* (Com GM), cultivadas em substrato contaminado com 400 mg kg<sup>-1</sup> de cobre



\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Autor (2017).

Nesse sentido, foi evidenciado que a adição de matéria orgânica por meio de vermicomposto reduziu as concentrações de cobre no solo e resultou em maior colonização micorrízica, aumento na absorção de nutrientes e crescimento de planta (SANTANA et al., 2015). Isso pode estar relacionado ao efeito amenizante do composto, o qual reduz a disponibilidade do metal no solo, além das melhorias na fertilidade do solo, favorecendo o desenvolvimento dos FMAs.

Os parâmetros morfológicos foram influenciados pelos tratamentos utilizados, sendo a altura e o diâmetro de colo do *Eucalyptus grandis* maiores nos tratamentos com uso de CARS associado a inoculação, principalmente do fungo *Gigaspora margarita* (Tabela 2). Esses resultados vão ao encontro com os obtidos por Fonseca et al. (2010) que, trabalhando com produção de mudas de *Acacia mangium* e *Mimosa artemisiana*, observaram maior altura de planta com inóculo de FMA juntamente com composto orgânico originado de lixo urbano. Portanto, o uso de composto orgânico associado ao fungo *Gigaspora margarita* e *Acaulospora colombiana* favorece o crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis*.

As massas secas da parte aérea, radicular e total foram maiores nos tratamentos com adição de CARS e inoculação do fungo *Gigaspora margarita* seguido do fungo *Acaulospora colombiana* (Tabela 2). O uso de fertilizantes de origem orgânica possibilita melhoria no processo de fitorremediação, diminuindo a disponibilidade dos metais devido à presença de grupos funcionais de ligação de metais pesados, favorecendo o crescimento de planta, reduzindo a disponibilidade de cobre no solo, aumentando a fitoestabilização (GALENDE et al., 2014). Desta forma, é possível que o uso de CARS tenha possibilitado redução da disponibilidade do cobre no solo, favorecendo a ação dos FMA e seus benefícios para as mudas de *Eucalyptus grandis*, como maior crescimento de planta e maior produção de massa seca.

Os resultados evidenciaram que o uso de fungos sem adição de amenizantes não proporcionou incremento no IQD, enquanto que com a adição do CARS e inoculação do fungo *Gigaspora margarita* se obteve valor de 0,44 para este índice (Tabela 2). Conforme Hunt (1990), valores do IQD acima de 0,2 indicam mudas de boa qualidade. Resultados obtidos por (DE MARCO et al., 2017), utilizando outro composto a base de turfa como amenizante de cobre no solo, indica que esta fonte de matéria orgânica favorece o crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis*. Além disso, a inoculação de fungos também contribuiu para este índice, indo de encontro com os resultados obtidos por Lima e Sousa (2014), no qual mudas de eucalipto foram favorecidas pela simbiose com fungos micorrízicos, aumentando a absorção de nutrientes (N, P, K) e o seu crescimento. Neste caso, é possível inferir que o

CARS, favoreceu o crescimento dos parâmetros morfológicos das mudas, além de, juntamente com o fungo *Gigaspora margarita*, reduzir o efeito tóxico do excesso de cobre sobre as plantas.

Tabela 2 – Altura, diâmetro de colo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA) e radicular (MSR), massa seca total (MST) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de *Eucalyptus grandis*, sem e com inoculação do fungo *Gigaspora margarita* (Com GM) e *Acaulospora colombiana* (Com AC) sem e com adição de composto orgânico em solo contaminado com cobre

Fungo	Composto Orgânico**		Composto Orgânico	
	Sem	Com	Sem	Com
	----- <i>Altura (cm)</i> -----		----- <i>DC (mm)</i> -----	
Sem	28,03 abA*	33,63 bA	2,30 abB	3,10 bA
Com GM	34,53 aB	52,68 aA	2,95 aB	5,09 aA
Com AC	19,87 bB	49,65 aA	1,80 bB	3,53 bA
CV (%)	22,95		20,93	
	----- <i>MSPA (g)</i> -----		----- <i>MSR (g)</i> -----	
Sem	1,13 aA	1,18 cA	0,38 aA	0,45 cA
Com GM	1,07 aB	5,14 aA	0,33 aB	1,19 aA
Com AC	0,49 aB	3,59 bA	0,15 bB	0,81 bA
CV (%)	10,44		17,48	
	----- <i>MST (g)</i> -----		----- <i>IQD</i> -----	
Sem	1,57 aA	1,59 cA	0,10 aA	0,12 cA
Com GM	1,40 aB	6,33 aA	0,09 aB	0,44 aA
Com AC	0,65 bB	4,40 bA	0,04 bB	0,24 bA
CV (%)	12,44		52,34	

\*Dados com letra minúscula comparam valores na coluna e com letra maiúscula comparam valores na linha. Valores com mesma letra na linha ou na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). \*\*Composto orgânico de água residuária de suinocultura; Solo contaminado com 400 mg kg<sup>-1</sup> de cobre. Fonte: Autor (2017).

Os resultados não evidenciaram interação significativa entre os fatores de variação inóculo e composto para o CuPA, CuR, CuAPA, CuAR, CuAT e Itra. Os teores de cobre na parte aérea e radicular das mudas de *Eucalyptus grandis* foram significativamente menores com a inoculação do fungo *Gigaspora margarita* em relação aos demais tratamentos de inoculação (Tabela 3). De acordo com Silva et al. (2006), plantas micorrizadas de *Brachiaria decumbens* apresentaram redução dos teores de metais pesados, favorecendo o seu crescimento. Porém estes mesmo autores relatam que alguns fungos micorrízicos foram menos eficientes em reduzir os teores de metais pesados. Esse resultado evidencia a eficiência do fungo *Gigaspora margarita* em reduzir o teor de cobre nas mudas de *Eucalyptus grandis*.

O acúmulo de cobre na parte aérea foi maior para o tratamento com o fungo *Gigaspora margarita* (Tabela 3). Isso pode ser resultado da maior absorção de nutrientes promovido pelo fungo *Gigaspora margarita*, visto que as micorrizas contribuem para a absorção de nutrientes (SANTANA et al., 2015). Além disso, plantas em associação micorrízica produzem maior quantidade de biomassa, promovendo maior absorção e acúmulo de metais pesados (SILVA et al., 2006). O fungo *Gigaspora margarita* contribui para o aumento de massa seca da parte aérea em *Eucalyptus grandis*, como já apresentado na Tabela 2, repercutindo no maior acúmulo de cobre na parte aérea da planta.

O cobre acumulado na raiz e acumulado total foi significativamente maior nos tratamentos sem fungo e com *Gigaspora margarita* (Tabela 3). Resultados de pesquisa indicam que a inoculação de FMA proporciona aumento da absorção de cobre, com maior retenção nas raízes das plantas em associação com os fungos *G. gigantea*, *A. morrowiae*, *Aucalospora colombiana* e *R. clarus*, reduzindo a sua toxicidade na parte aérea das plantas de videira (AMBROSINI et al., 2015).

As plantas de *Eucalyptus grandis* translocaram mais cobre para a parte aérea com a inoculação do fungo *Gigaspora margarita* em relação ao tratamento sem inoculação (Tabela 3). Em gramíneas, a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares favoreceu o crescimento das plantas, porém reduziu a translocação de Cd e Pb para a parte aérea (CARNEIRO et al., 2001). Logo, a inoculação da espécie *Gigaspora margarita* possibilita maior translocação de cobre para a parte aérea de mudas de *Eucalyptus grandis* em relação às mudas sem inoculação.

Tabela 3 – Efeitos simples dos tratamentos de inoculação sem fungo, com *Gigaspora margarita* (Com GM) e com *Acaulospora colombiana* (Com AC) para o teor de cobre na parte aérea (CuPA) e radicular (CuR), cobre acumulado na parte aérea (CuAPA) e radicular (CuAR), acumulado total (CuAT) e para o índice de translocação (Itra) de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado

Fungo	CuPA	CuR	CuAPA	CuAR	CuAT	Itra
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----		-----µg planta <sup>-1</sup> -----			---%---
Sem	15,21 a*	379,35 a	17,58 b	158,43 a	176,01 a	10,26 b
Com GM	7,53 b	131,38 b	32,09 a	131,01 a	163,09 a	21,24 a
Com AC	14,8 a	268,05 a	10,99 c	62,68 b	73,68 b	15,63 ab
CV (%)	19,85	31,50	19,88	33,61	28,85	29,05

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey (P<0,05). Solo contaminado com 400 mg kg<sup>-1</sup> de cobre. Fonte: Autor (2017).

Os resultados evidenciaram interação entre os efeitos simples para os tratamentos sem e com uso de CARS para o CuPA, CuR, CuAPA, CuAR, CuAT e ITRA (Tabela 4). Os teores de Cu na parte aérea e radicular foram reduzidos com a adição de CARS. Da mesma forma, as quantidades de Cu acumuladas na parte aérea, na raiz e total foram significativamente maiores sem a adição de amenizante. Esses resultados podem estar relacionados ao aumento de matéria orgânica proporcionado pela adição de CARS, pelo fato da matéria orgânica formar complexos estáveis com os metais, reduzindo a disponibilidade dos mesmos para as plantas e demonstrando efeito amenizante da toxicidade de Cu (KUMPIENE et al., 2008).

Além disso, o índice de translocação foi reduzido com a adição de CARS como amenizante. Isso se deve pelo fato da matéria orgânica proveniente do CARS proporcionar a redução da disponibilidade do Cu as plantas. O uso de compostos orgânicos reduz a biodisponibilidade de metais através da adsorção e reações de complexação, reduzindo a sua disponibilidade para absorção pelas plantas e perdas por lixiviação (PARK et al., 2011). Portanto, fica evidente o efeito amenizante proporcionado pelo CARS em reduzir a disponibilidade do Cu na solução do solo.

Tabela 4 – Efeitos simples dos tratamentos sem e com composto de água residuária de suinocultura para o teor de cobre na parte aérea (CuPA) e radicular (CuR), cobre acumulado na parte aérea (CuAPA) e radicular (CuAR), acumulado total (CuAT) e para o índice de translocação (Itra) de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em substrato contaminado

Composto orgânico	CuPA	CuR	CuAPA	CuAR	CuAT	Itra
	-----mg kg <sup>-1</sup> -----		-----µg planta <sup>-1</sup> -----			----%----
Sem	17,20 a	428,29 a	19,43 a	162,75 a	182,18 a	10,66 a
Com	13,23 b	330,41 b	15,61 b	148,68 b	164,29 b	9,50 b
CV (%)	19,85	31,50	19,88	33,61	28,85	29,05

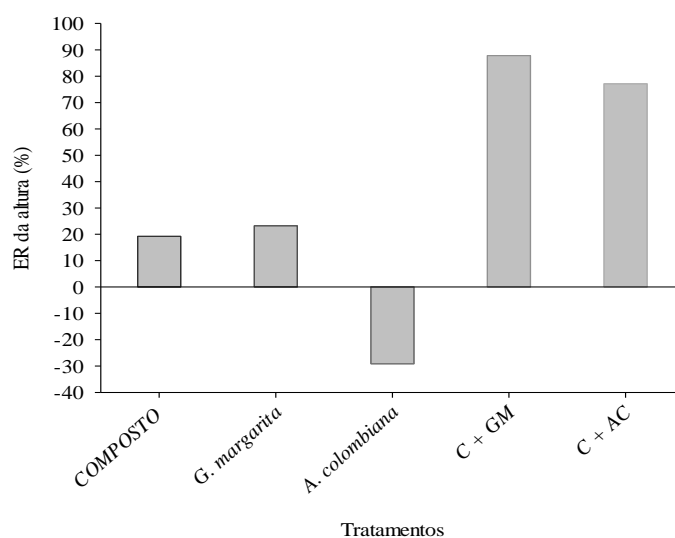
\* As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna. Teste de Tukey (P<0,05). Solo contaminado com 400 mg kg<sup>-1</sup> de cobre. Fonte: Autor (2017).

O índice de eficiência relativa (ER) dos tratamentos para a altura do *Eucalyptus grandis* evidenciou efeito positivo com a utilização conjugada dos tratamentos CARS e inóculo de FMA, enquanto a espécie *Aucalospora colombiana* proporcionou um índice de eficiência negativo, quanto utilizado de forma isolada sem o composto orgânico (Figura 2). Algumas vezes, espécies de fungos micorrízicos arbusculares não proporcionam benefícios para a planta, ou seja, não são eficientes nas trocas, e conseqüentemente não beneficiam a

planta nutricionalmente e nem em seu crescimento (SENA et al., 2004). No caso de solos contaminados, os FMA são influenciados de acordo com o grau de poluição dos metais pesados (KLAUBERG-FILHO et al., 2002).

Os resultados deste trabalho indicam que o uso de inóculo de fungo *Gigaspora margarita* foi eficiente na simbiose com *Eucalyptus grandis*, promovendo mudas de melhor qualidade e maior acúmulo de metal. De outra forma, se observou que o fungo *Acaulospora colombiana* não foi eficiente em promover mudas de qualidade. O composto de água residuária foi eficiente em aumentar os parâmetros morfológicos das mudas de *Eucalyptus grandis* quando utilizado em conjunto com os fungos *Gigaspora margarita* e *Acaulospora colombiana*, podendo ser usado em locais com contaminação com cobre.

Figura 2 – Eficiência relativa (ER) dos fatores de variação inóculo e composto para a altura de mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  cobre. Tratamento com adição de composto de água residuária de suinocultura, com inóculo de *Gigaspora margarita* e *Acaulospora colombiana* e com composto + *Gigaspora margarita* (C + GM) e composto + *Acaulospora colombiana* (C + AC)



Fonte: Autor (2017).

## 5.6 CONCLUSÕES

A adição de composto de água residuária de suinocultura com inóculo de fungos micorrízicos arbusculares *Gigaspora margarita* e *Acaulospora colombiana* aumentam os

parâmetros morfológicos e qualidades de mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com cobre.

O acúmulo de cobre na parte aérea e a translocação deste para a parte aérea em mudas de *Eucalyptus grandis* é maior com a inoculação do fungo *Gigaspora margarita*.

A adição de composto de água residuária de suinocultura promove menor acúmulo de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis*.

## 5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABICHEQUER, A. D.; BOHNEN, H. Eficiência de absorção, translocação e utilização de fósforo por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 21–26, 1998.

AMBROSINI, V. G. et al. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on young vines in copper-contaminated soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 4, p. 1045–1052, 2015.

ANDREAZZA, R. et al. Chemosphere Bacterial stimulation of copper phytoaccumulation by bioaugmentation with rhizosphere bacteria. **Chemosphere**, v. 81, n. 9, p. 1149–1154, 2010.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1443–1452, 2001.

CORNEJO, P. et al. Copper compartmentalization in spores as a survival strategy of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 925–928, 2013.

FERREIRA, D. F. SISVAR - Sistema de análise de variância. , 2011. Lavras- MG: UFLA.  
FERREIRA, P. A. A. S. et al. Estratégias de amenização da fitotoxicidade de metais pesados em solos de vinhedos. **Embrapa Uva e Vinho**, v 1, p. 111–138, 2016.

FONSECA, F. A. et al. Produção de mudas de *Acacia mangium* *Mimosa artemisiana* e utilizando resíduos urbanos como substratos, associados a fungos micorrízicos arbusculares. **Embrapa Agrobiologia**, 2010. Seropédica, RJ.

GALENDE, M. A. et al. Field assessment of the effectiveness of organic amendments for aided phytostabilization of a Pb – Zn contaminated mine soil. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 145, p. 181–189, 2014.

KAFKAS, S.; ORTAS, I. Various Mycorrhizal Fungi Enhance Dry Weights , P and Zn Uptake of Four Pistacia Species. **Journal of Plant Nutrition**, v. 32, p. 146–159, 2009.

KLAUBERG-FILHOI, O.; SIQUEIRA S., J. O.; MOREIRA, F. M. SEÇÃO III - BIOLOGIA DO SOLO. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 1, p. 125–134, 2002.

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA

mycorrhizas. **Mycological Research**, v. 92, n. 2, p. 486–488, 1989.

KUMPIENE, J.; LAGERKVIST, A.; MAURICE, C. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments – A review. **Waste Management**, v. 28, p. 215–225, 2008.

LIMA, F. D. S.; SOUSA, C. DA S. Crescimento e nutrição de mudas de clones. **Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia**, v. 44, n. 2, p. 110–118, 2014.

LINS, C. E. L. et al. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de mudas de *Leucaena leucocephala* (LAM.) DE WIT. em solos de caatinga sob impacto de mineração de cobre. **Revista Árvore**, v. 31, n. 2, p. 355–363, 2007.

MANN; RITCHIE, P. G. S. P. Influence of pH on on the the Forms Forms of Cadmium in Four West Australian Australian Soils. **Australian Journal of Soil Research**, v. 31, p. 255–270, 1993.

DE MARCO, R. et al. Amenizante Orgânico e *Eucalyptus grandis* para Fitoestabilização de Solo Contaminado com Cobre. **Floresta e Ambiente 2017**; v. 8087, 2017.

DE MARCO, R. et al. *Senna multijuga* e turfa em fitoestabilização do cobre em solo contaminado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, p. 421–426, 2017.

MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; et al. Copper uptake , accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. , p. 593–610, 2014.

MIYAZAWA, M. et al. **Análise química de tecido vegetal**. In: SILVA, F. C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. p.59–85, 2009.

PARK, J. H. et al. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 2–3, p. 549–574, 2011.

PRÁ, M. A. D.; KONZEN, E. A.; MORES, P. A. DE O. E. Compostagem de Dejetos Líquidos de Suínos. **Embrapa Milho e Sorgo**. 1ª edição ed., p.25, 2005. Sete Lagoas, MG.

ROSSETO, P. et al. Densidade de esporos de fungos micorrízicos arbusculares do banco de germoplasma de *Glomales* DA UNIPAR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v. 15, n. 1, p. 43–47, 2012.

SANTANA, N. A. et al. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on copper phytoremediation in a sandy soil. **Applied Soil Ecology**, v. 96, p. 172–182, 2015.

SANTOS, G. DE A.; SILVA, L. S. DA; CANELLAS, L. P.; F.A.O., C. **Fundamentos da matéria orgânica do solo: Ecossistemas tropicais e subtropicais**. 2.ed. ed. Porto Alegre: Metrópole, 2008.

SCHIAVO, J. A. et al. Composto orgânico e inoculação micorrízica na produção de mudas de pinhão manso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 3, p. 322–329, 2010.



SEDIYAMA, M A. N. et al. Nutrientes em compostos orgânicos de resíduos vegetais e dejetos de suínos. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 1, p. 1–5, 2000.

SENA, J. O. A.; LABATE, C. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Caracterização fisiológica da redução de crescimento de mudas de citros micorrizadas em altas doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 5, p. 827–832, 2004.

SILVA, S. et al. Fungos micorrízicos no crescimento e na extração de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p. 1749–1757, 2006.

SOUZA, J. T. DE; FIORENTIN, L. D. Quantificação da biomassa e do carbono em povoamento de *Eucalyptus grandis* W . HILL EX MAIDEN , Em Santa Maria, RS. **Unoesc & Ciência** -, v. 4, n. 2, p. 253–262, 2013.

TEDESCO, M. J. et al. Análise de solo, plantas e outros materiais. **Porto Alegre-RS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, p. 174, 1995.

## 6 DISCUSSÃO GERAL

A ocorrência de áreas contaminadas com metais pesados, principalmente pela ação antrópica, vem aumentando muito com a expansão das atividades industriais, de urbanização, mineração e agropecuárias (ANDREAZZA et al., 2013), e descarte de resíduos orgânicos e inorgânicos, tanto de forma proposital quanto acidental (COUTINHO et al., 2015). Esse crescimento dificilmente pode ser freado, e em decorrência disso, estudos precisam ser realizados para enfrentar os impactos gerados por essas atividades. Diante disso, o uso de plantas como técnica de remediação dessas áreas é uma alternativa, especialmente quando se utiliza espécies arbóreas de crescimento rápido (KAVAMURA; ESPOSITO, 2010).

Os resultados obtidos nestes trabalhos revelaram que as doses de cobre utilizadas reduziram os parâmetros morfológicos das mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora*, sendo a maior parte do cobre acumulada no sistema radicular. As espécies *Eucalyptus saligna* e *Corymbia citriodora* apresentaram maior tolerância a contaminação de cobre no solo. Com isso, foi possível realizar a seleção de espécies que sejam tolerantes em crescer e se desenvolver em áreas contaminadas com cobre.

Com base no artigo 1 foi possível identificar espécies com maior ou menor tolerância a contaminação do solo com cobre. No artigo 2 foi possível testar o *Eucalyptus grandis* como espécie com menor tolerância e o *Eucalyptus saligna* com maior tolerância ao cobre. Desta forma, observou-se que a adição de composto orgânico proveniente de água residuária de suinocultura proporciona maior crescimento e acúmulo de cobre nas mudas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* cultivadas em solo contaminado. A presença de altos teores de matéria orgânica no solo pode reduzir a disponibilidade de contaminantes no solo, favorecendo a planta e o processo de fitorremediação (VASCONCELLOS et al., 2012). O uso de matéria orgânica na forma de turfa favoreceu o crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis*, além das mudas apresentarem elevada capacidade de acumular cobre na raiz (DE MARCO et al., 2017). Deste modo, o composto de água residuária de suinocultura se apresenta como uma alternativa em ser utilizado em locais com altos teores de cobre, pelos benefícios que proporciona nas mudas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna* cultivadas em solo contaminado com esse elemento potencialmente tóxico.

De acordo com o artigo 2, trabalhou-se com a adição de 40% de CARS juntamente com a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com cobre. Verificou-se que o uso conjugado de composto de água residuária de suinocultura e fungos micorrízicos arbusculares da espécie *Gigaspora*

*margarita* em solo contaminado com cobre proporcionou aumento nos parâmetros morfológicos, bem como maior acúmulo de cobre das mudas de *Eucalyptus grandis*. Além disso, destaca-se que as espécies de fungos micorrízicos arbusculares induzem respostas diferenciadas no crescimento e acúmulo de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com cobre, necessitando-se do desenvolvimento de trabalhos que visem a seleção de espécie de fungos micorrízicos arbusculares que sejam compatíveis com determinadas espécies de eucalipto, para sua utilização em solo contaminado com cobre. Desta forma, os benefícios proporcionados pela associação simbiótica variam entre as espécies de fungos micorrízicos arbusculares (ROSA et al., 2016).

Recomenda-se o desenvolvimento de mais pesquisas com seleção de espécies arbóreas e fungos micorrízicos arbusculares para que possam ser utilizadas para remediação de áreas contaminadas com cobre e outros metais pesados, bem como o uso de composto orgânico de água residuária da suinocultura como amenizante de solos contaminados.

## 7 CONCLUSÃO GERAL

As doses de cobre aplicadas no solo promoveram a redução dos parâmetros morfológicos das mudas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus dunnii* e *Corymbia citriodora*. O cobre absorvido pelas mudas dessas quatro espécies de eucalipto acumulou-se no sistema radicular, o que se torna um ponto interessante em espécies fitoestabilizadoras. As espécies *Corymbia citriodora* e *Eucalyptus saligna* apresentaram maior índice de tolerância aos níveis de cobre no solo.

O uso de composto de água residuária de suinocultura proporciona maior crescimento, acúmulo de cobre e qualidade de mudas nas espécies de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*, além de proporcionar redução da disponibilidade de cobre no solo e aumentar a fração de cobre adsorvida à matéria orgânica, podendo ser utilizado para fins de amenizar os efeitos tóxicos do cobre as plantas de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus saligna*.

E por fim, a adição de composto de água residuária de suinocultura com inóculo de fungos micorrízicos arbusculares *Gigaspora margarita* melhora os parâmetros morfológicos e qualidades de mudas de *Eucalyptus grandis* cultivadas em solo contaminado com cobre, proporcionando também maior acúmulo de cobre em seus tecidos. A adição de composto de água residuária de suinocultura promove menor acúmulo de cobre em mudas de *Eucalyptus grandis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, H.; KHAN, E.; ANWAR, M. Chemosphere Phytoremediation of heavy metals — Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, n. 7, p. 869–881, 2013.

ANDRADE, S. A. L. et al. Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 198–207, 2010.

ANDREAZZA, R. et al. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 127–136, 2013.

ANDREAZZA, R. et al. Characterization of copper bioreduction and biosorption by a highly copper resistant bacterium isolated from copper-contaminated vineyard soil. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 7, p. 1501–1507, 2010.

BRADL, H. B. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 277, p. 1-18, 2004.

CAMPOS, D. T. S. et al. Colonização micorrízica em plantios de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 5, p. 965-974, 2011.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>. Acesso em: 15 jul. 2017.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1443–1452, 2001.

CORNEJO, P. et al. Copper compartmentalization in spores as a survival strategy of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. **Soil Biology and Biochemistry**, 57, 925- 928, 2013.

COUTINHO, P. W. et al. Alternativas de remediação e descontaminação de solos: BIORREMEDIAÇÃO E FITORREMEDIAÇÃO. **Nucleus**, v. 12, n. 1, p. 59–68, 2015.

DE MARCO, R. et al. Amenizante Orgânico e *Eucalyptus grandis* para Fitoestabilização de Solo Contaminado com Cobre. **Floresta e Ambiente**, v. 24, 2017.

DE MARCO, R. et al. Senna multijuga and peat in phytostabilization of copper in contaminated soil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 26, p. 421–426, 2017.

DOUDS, D. D.; MILLNER, P. D. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 74, p. 77-93, 1999.

FEPAM. Fundação Estadual de Meio Ambiente do Rio Grande do Sul. Portaria N° 85/2014. Dispõe sobre o estabelecimento de Valores de Referência de Qualidade (VQR) dos solos para nove elementos químicos naturalmente presentes nas diferentes províncias geomorfológicas/geológicas do estado do Rio Grande do Sul.

FERREIRA, P. A. A. S. et al. Estratégias de amenização da fitotoxicidade de metais pesados em solos de vinhedos. , , n. Figura 1, p. 111–138, 2016.

FOLLI-PEREIRA, M. S. et al. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa , v. 36, n. 6, p. 1663-1679, 2012 .

FREITAS, G. J. et al. Os eucaliptos no vale do Paraíba paulista: aspectos geográficos e históricos. **Revista Geonorte**, Edição Especial, v.1, n.4, p. 221-237, 2012.

GARCIA, K. G. V. et al. Micorrizas arbusculares no crescimento de mudas de sabiá em um substrato proveniente da mineração de manganês. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.11, n. 2, p. 15-20, 2016.

HUGEN, C. et al. Teores de Cu e Zn em perfis de solos de diferentes litologias em Santa Catarina Cu and Zn contents in soil profiles of different lithologies in Santa Catarina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 6, p. 622–628, 2013.

KAVAMURA, V. N.; ESPOSITO, E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 1, p. 61–69, 2010.

LINS, C. E. L. et al. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento de mudas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. em solos de caatinga sob impacto de mineração de cobre. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 355-363, 2007.

MAGALHÃES, M. O. L. et al. Potencial de duas espécies de eucalipto na fitoestabilização de solo contaminado com zinco. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 3, p. 805–812, 2011.

MARQUES, M.; SILVA, C. R. C. A.; DA, J. J. L. S. Desafios técnicos e barreiras sociais, econômicas e regulatórias na fitorremediação de solos contaminados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 1, p. 1-11, 2011.

MOREIRA, D. A. et al. Estudo da adsorção simultânea de cobre, níquel e zinco por vermicomposto utilizando planejamento fatorial. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 9, n. 2, p. 216-227, 2012.

MOREIRA, F.M. de S.; SIQUEIRA, J.O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. atual. e ampl. Lavras: Ufla, 2006. 729p.

PAJEVIC, S. et al. Phytoremediation capacity of poplar (*Populus* spp.) and willow (*Salix* spp.) clones in relation to photosynthesis. **Archives of Biological Science**, Belgrade, v. 61, n. 2, p. 239–247, 2009.

PARK, J. H. et al. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal(loid) contaminated soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, p. 549–574, 2011.

ROSA, D. J. et al. Parâmetros fisiológicos em videiras ‘Paulsen 1103’ (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com cobre. **Ciência Técnica Vitivinícola**, v. 31 n. 1, 14-23, 2016.

SANCHEZ-PARDO, B.; PASCUAL, M. F.; ZORNOZA, P. Copper microlocalisation and changes in leaf morphology, chloroplast ultrastructure and antioxidative response in white lupin and soybean grown in copper excess. **Journal of Plant Research**, v. 127, p. 119–129, 2014.

SANTOS, G. C. G. et al. 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**, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 793-804, 2007.

SANTOS, J. F.; GRANGEIRO, J. I.T.; OLIEIRA, M. E. C. Produção da cultura da mamoneira em função da fertilização com cama de galinha. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 7, n. 1, p. 169-180, 2010.

SERPA, R. et al. Compostagem de dejetos de suínos. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 6, n. 1, p. 47–78, 2012.

SCHWAB, P.; ZHU, D.; BANKS, M.K. Heavy metal leaching from mine tailings as affected by organic amendments. **Bioresource Technology**, v.98, p.2935–2941. 2007.

STOFFEL, S. C. G. et al. micorrizas arbusculares no crescimento de leguminosas arbóreas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. **CERNE**, Lavras, v. 22, n. 2, p. 181-188, 2016.

SOUZA, J. T.; FIORENTIN, L. D. Quantificação da biomassa e do carbono em povoamento de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, em Santa Maria, RS. **Unoesc & Ciência**, v. 4, n. 2, p. 253-262, 2013.

SMITH S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis** 3<sup>rd</sup> ed. Academic Press. London. 803 p, 2008.

VASCONCELLOS, M. C.; PAGLIUSO, D.; SOTOMAIOR, V. S. Fitorremediação: Uma proposta de descontaminação do solo. **Estudos de Biologia Ambiente e Diversidade**, v. 34, n. 83, p. 261–267, 2012.

WALKER, D. J.; CLEMENTE, R.; BERNAL, P. Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. *Chemosphere*, v. 57, n. 3, p. 215-224, 2004.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v. 36, p. 409-430, 2009.

YRUELA, I. Transition metals in plant photosynthesis. **Metallomics**, v. 5, p. 1090-1109, 2013.