UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CAMPUS FREDERICO WESTPHALEN – RS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Ricardo Turchetto

FUNGOS MICORRÍZICOS E *Azospirillum* NO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

Frederico Westphalen, RS.
2021

Ricardo Turchetto

FUNGOS MICORRÍZICOS E *Azospirillum* NO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.**

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Ferreira da Silva

Frederico Westphalen, RS.
2021

Turchetto, Ricardo
FUNGOS MICORRÍZICOS E Azospirillum NO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE / Ricardo Turchetto.- 2021.
103 p.; 30 cm

Orientador: Rodrigo Ferreira da Silva
Coorientador: Genesio Mario da Rosa
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Campus de Frederico Westphalen, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, RS, 2021

1. Trigo 2. Cobre 3. Textura de solo 4. Micorrizas Arbuscuares 5. Azospirillum Brasilense I. Ferreira da Silva, Rodrigo II. Mario da Rosa, Genesio III. Título.

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

© 2021
Todos os direitos reservados a Ricardo Turchetto. A reprodução em partes ou de todo deste trabalho só poderá ser realizada mediante a citação da fonte.
Endereço: Linha Sete de Setembro, s/n - BR386, km 40. CEP: 98400-000. Frederico Westphalen, RS, Brasil.
Fone: (55) 99658-2291; Endereço eletrônico: ricardoturchetto10@gmail.com

Ricardo Turchetto

FUNGOS MICORRÍZICOS E *Azospirillum* NO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.**

Rodrigo Ferreira da Silva, Dr. (UFSM)
Presidente/ Orientador
(Defesa via google meet)

Clovis Orlando da Ros, Dr. (UFSM)
(Defesa via google meet)

Danni Maisa da Silva, Drª. (UERGS)
(Defesa via google meet)

Frederico Westphalen, RS.
2021

Aos meus pais, Alceu e Marli,
Exemplos de vida, que sempre me
Apoiaram e acreditaram nessa vitória.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me guiar, me manter forte a estar meu lado nas horas boas e difíceis.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e o programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (PPGCTA) pela oportunidade do Mestrado.

À minha família, meus pais Alceu e Marli, meu irmão Marcelo e meu avô Avelino por estarem sempre ao meu lado, pelo apoio incondicional e confiança no meu potencial.

Ao meu orientador, professor e amigo Rodrigo Ferreira da Silva, pela oportunidade, e orientação neste trabalho.

Ao professor Genésio Mario da Rosa pelos ensinamentos, amizade e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Clovis O. Da Ros, Vanderlei R. da Silva, Felipe Turchetto e Hilda H. Soriani pelos ensinamentos e por disponibilizarem infraestruturas, equipamentos e laboratórios para avaliações.

Aos membros da banca examinadora, Rodrigo Ferreira da Silva, Clovis Orlando da Ros e Danni Maisa da Silva pela disponibilidade e contribuições.

Aos técnicos laboratoriais e amigos Andrea da R. Giovenardi, Lucindo Somavilla, Marcela de M. Torchelsen e Fernanda Volpatto, pelo auxílio na realização de análises e concessão de equipamentos e materiais.

A Sinara Barros, pelo carinho, amor, incentivo e apoio inconcicional durante essa caminhada.

Aos amigos e colegas do laboratório de microbiologia, biologia do solo e de análise de águas que muito contribuíram para a realização deste trabalho: Lucas J. Trombetta, Gabriel B. Volpi, Wagner Sarmento, Pablo B. de Bem, Kétila M. de Carvalho, Djavan A. Coinaski, Juliano Cesar, Juliano B. Magalhães, Daiane S. Andreola, Fernanda Devens, Ana Paula da Silva.

Aos demais amigos que fiz nessa jornada da graduação e pós-graduação, pelo carinho que tenho por vocês.

Aos demais professores e funcionários da UFSM-FW.

A todos aqueles não citados, mas que contribuíram de uma forma ou outra e fizeram parte dessa conquista.

A TODOS, MUITO OBGRIGADO!

"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê." (Arthur Schopenhauer)

RESUMO

FUNGOS MICORRÍZICOS E *Azospirillum* NO DESENVOLVIMENTO DO TRIGO EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

AUTOR: Ricardo Turchetto
ORIENTADOR: Rodrigo Ferreira da Silva

O cobre é um micronutriente considerado essencial para os vegetais, porém, a adição em excesso deste metal no solo pelas atividades antrópicas, torna este elemento tóxico às espécies agrícolas. A dinâmica do cobre no solo sofre influência das características físicas e químicas bem como da atividade de microrganismos simbióticos, fungos e bactérias, associados a diferentes culturas. Desse modo, o objetivo geral deste trabalho foi analisar a influência de diferentes texturas de solo, de espécies de fungos micorrizicos e de bactérias promotoras de crescimento de plantas na tolerância das plantas de trigo cultivadas em solo contaminado com cobre. Para atenter o objetivo, foram desenvolvidos três estudos sendo que o primeiro teve como objetivo avaliar a influência da textura do solo na toxidez de cobre e na capacidade de desenvolvimento do trigo em solo contaminado com esse metal; o segundo avaliar o efeito da inoculação de três espécies de fungos micorrízicos no crescimento e acúmulo de cobre em plantas de trigo em solo contaminado com cobre; e no terceiro determinar a influência da co-inoculação de fungos micorrízicos e bactérias promotoras de crescimento de plantas no crescimento e acúmulo de cobre pela cultura do trigo cultivado em solo contaminado com cobre. Os resultados evidenciaram que a cultura do trigo sofre influência negativa pela adição de cobre no solo, e o seu teor na planta é afetado pela textura de solo. Solos arenosos favorecem a translocação de cobre para o grão de trigo em áreas contaminadas com este metal. A bioconcentração e bioacumulação de cobre na cultura do trigo são maiores em solo com textura de 17,5% em relação a texturas 52,5 e 70% de argila. Os isolados micorrízicos *Acaulospora colombiana* e *Gigaspora margarita* proporcionam maior altura, comprimento de raiz e área superficial específica na cultura do trigo. Os fungos micorrízicos possibilitam maior teor de cobre nas raízes e consequentemente menor mobilização desse metal para a parte aérea e grãos do trigo. Há efeito antagônico da co-inoculação do *A. brasilense* na colonização das raízes do trigo por fungos micorrízicos do gênero *A. colombiana* e *G. margarita.* A co-inoculação *A. Colombiana* com *A. Brasilense* proporciona maior teor de cobre na parte aérea do trigo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum.* Textura de solo. Metal pesado. Fungos micorrízicos. *Azospirillum brasilense.*

ABSTRACT

MYCORRHIZAL FUNGI AND Azospirillum IN THE DEVELOPMENT OF WHEAT IN SOIL CONTAMINATED WITH COPPER

AUTHOR: Ricardo Turchetto
ADVIROR: Rodrigo Ferreira da Silva

Copper (Cu) is a micronutrient considered essential for plants, however, the addition of metal in the soil by human activities, makes this element potentially polluting and toxic to agricultural species. The dynamics of copper in the soil is influenced by the physical and chemical characteristics of the soil as well as the activity of symbiotic microorganisms associated with different cultures. Thus, the general objective of this work was to analyze the influence of different soil textures, species of mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria on the tolerance and accumulation of copper in wheat plants grown in soil contaminated with copper. To meet the objective, three scientific studies were developed, the first of which aimed to assess the influence of soil texture on copper toxicity and the development capacity of wheat in soil contaminated with this metal; the second to evaluate the effect of inoculation of three species of mycorrhizal fungi on the growth and accumulation of copper in wheat plants in soil contaminated with copper; and in the third, to determine the influence of the use of mycorrhizal fungi associated with a genus of bacteria that promotes plant growth in the growth and accumulation of copper by the cultivation of wheat grown in soil contaminated with copper. The results showed that the wheat culture is negatively influenced by the addition of copper to the soil, and its content is affected by the soil texture. Sandy soils favor the translocation of copper to the wheat grain in areas contaminated with this metal. The bioconcentration and bioaccumulation of copper in the wheat crop is superior in soil with a texture of 17.5%. The mycorrhizal isolates Acaulospora Colombiana and Gigaspora Margarita provide greater height, root length and specific surface area and lower copper content in the grain in wheat. Mycorrhizal fungi allow a higher content of copper in the roots and consequently less mobilization of this metal to the aerial part and grains of wheat. There is an antagonistic effect of the co-inoculation of A. brasilense on the colonization of wheat roots by mycorrhizal fungi of the genus A. colombiana and G. margarita. Co-inoculation A. Colombiana / A. Brasilense provides higher copper content in the aerial part of the wheat.

Key-words: Triticum aestivum. Soil texture. Heavy metal. Mycorrhizal fungi. Azospirillum brasilense.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Textura e análise química dos solos utilizado para o cultivo do trigo..... 26

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Textura e análise química do solo utilizado para o cultivo do trigo..... 50

CAPÍTULO 3

Tabela 1: Textura e análise química do solo utilizado para o cultivo do trigo..... 75

Tabela 2: Médias de altura de planta (AP), número de perfilhos (NP), e massa seca da parte aérea (MSA), de plantas de trigo, cultivado em solo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum Brasilense; Acaulospora Colombiana, Acalospora Colombiana + Azospirillum Brasilense; Gigaspora Margarita* e *Gigaspora Margarita + Azospirillum Brasilense*..... 79

Tabela 3: Volume de raiz (VR), comprimento de raiz (CR) e massa seca de raiz (MSR), de plantas de trigo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum Brasilense; Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense.* 81

Tabela 4: Médias de Área superficial específica (ASE) e Diâmetro médio (DM) de raízes de plantas de trigo, cultivado em solo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana+ Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita E Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense.* 82

Tabela 5: Teor de cobre na raiz, parte aérea e grão de plantas de trigo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense*..... 83

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1: Teor pseudo-total de cobre em solos com diferentes texturas (17,5, 35 52,5 e 70% de argila), no final do cultivo de trigo, submetido a doses de cobre (0 (teor original de cobre no solo), 80, 160, 240, 320 e 400 mg de cobre kg^{-1} de solo) 28

Figura 2: Equação de regressão para altura de plantas (AP) de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre mg kg^{-1} de solo 30

Figura 3: Equação de regressão para comprimento de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre mg kg^{-1} de solo. 31

Figura 4: Equação de regressão para massa seca de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas de solo (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre em mg de cobre kg^{-1} de solo. 32

Figura 5: Equação de regressão para volume de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas de solo (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre em mg de cobre kg^{-1} de solo. 32

Figura 6: Equação de regressão para número de perfilhos de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre mg kg^{-1} de solo. 34

Figura 7: Equação de regressão para os efeitos simples doses de cobre no solo (A e C) e comparação de médias para texturas do solo (B e D) para massa seca da parte aérea e total de trigo. 35

Figura 8: Equação de regressão para o teor de cobre na parte aérea de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre no solo..... 36

Figura 9: Equação de regressão e comparação de médias para as variáveis teor de cobre na raiz e grão de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre mg kg^{-1} no solo. 37

Figura 10: Fator de bioconcentração (A) e de bioacomulação (B) de cobre na cultura do trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70% de argila) e doses de cobre mg kg^{-1} no solo. 38

Figura 11: Índice de tolerância (ITOL) (A) e Índice de translocação (ITRA) (B) de cobre na cultura do trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70% de argila) e doses de cobre mg kg^{-1} no solo. 39

CAPÍTULO 2

Figura 1: Cobre disponível e Pseudo-total em solo cultivado com trigo e doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg de cobre kg^{-1} de solo).....52

Figura 2: Efeito simples significativo de doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1} de solo) para altura de planta, comprimento, massa seca, volume, área superficial específica e diâmetro médio de raiz de plantas de trigo. 53

Figura 3: Efeito simples significativo de inóculo micorrízico (*A. colombiana, G. margarita, R. clarus* e testemunha, sem inóculo), na altura de planta, comprimento, massa seca, volume, área superficial específica e diâmetro médio de raiz de plantas de trigo. 56

Figura 4: Porcentagem de colonização micorrízica em raízes de trigo cultivado em diferentes doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1} de solo), sem (Testemunha) e com inoculação de *Acaulospora colombiana, Gigaspora margarita* e *Rizophagus clarus.* 59

Figura 5: Efeito simples de doses de cobre (A) e dos inóculos micorrízicos (B) *A. colombiana, G. margarita, R. clarus* e testemunha (sem inóculo) na produtividade do trigo.....60

Figura 6: Teor de cobre na raiz, parte aérea e grão de plantas de trigo cultivado em diferentes doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1} de solo), sem (Testemunha) e com inoculação de *Acaulospora colombiana, Gigaspora margarita* e *Rizophagus clarus.* 61

CAPÍTULO 3

Figura 1: Percentual de colonização micorrízica em raízes de trigo cultivado em diferentes doses de cobre (0, teor natural e 400 mg kg^{-1} de solo), com inoculação de *Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense*. 77

Figura 2: Produtividade de trigo cultivado sob diferentes doses de cobre (0, teor natural e 400 mg kg-1 de solo) e inoculações com *Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense*.....84

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16
2.1 TRIGO 16
2.2 COBRE E ÁREAS CONTAMINADAS 17
2.3 DISPONIBILIDADE DE COBRE NO SOLO 19
2.5 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMAs) 19
2.6 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL 20
3 CAPÍTULO 1: TOLERÂNCIA E BIOACOMULAÇÃO DE COBRE EM TRIGO CULTIVADO EM SOLO COM DIFERENTES TEXTURAS 23
3.1 RESUMO 23
3.2 ABSTRACT 23
3.3 INTRODUÇÃO 24
3.4 MATERIAL E MÉTODOS 25
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 28
3.6 CONCLUSÃO 41
3.7 REFERÊNCIAS 42
4 CAPÍTULO 2: FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES PARA A CULTURA DO TRIGO EM DIFERENTES DOSES DE COBRE NO SOLO 47
4.1 RESUMO 47
4.2 ABSTRACT 47
4.3 INTRODUÇÃO 48
4.4 MATERIAL E MÉTODOS 49
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 52
4.6 CONCLUSÃO 64
4.7 REFERÊNCIAS 65
5 CAPÍTULO 3: FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL NA CULTURA DO TRIGO EM DIFERENTES DOSES DE COBRE NO SOLO 72
5.1 RESUMO 72
5.2 ABSTRACT 72
5.3 INTRODUÇÃO 73
5.4 MATERIAL E MÉTODOS 74
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 77
5.6 CONCLUSÃO 88

5.7 REFERÊNCIAS 89
6 DISCUSSÃO GERAL 95
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 97
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 98

1 INTRODUÇÃO GERAL

O cobre (Cu) é um micronutriente considerado essencial para o desenvolvimento dos vegetais. O micronutriente participa do metabolismo e é parte estrutural de algumas enzimas, porém quando presente em elevadas concentrações prejudica o desenvolvimento de espécies vegetais, tornando-se potencialmente tóxico, contaminando solo e a água.

Este elemento encontra-se presente em condições naturais no solo, em diferentes proporções presentes no material de origem, no entanto, sua concentração no solo vem aumentando em decorrência da intensificação das atividades agrícolas e industriais. As principais causas da acumulação desse elemento no solo são as atividades de mineração, aplicação de dejetos de suínos, fungicidas utilizados na vitivinicultura, a qual faz uso de calda bordalesa, fungicida a base de sulfato de cobre.

O cobre é um elemento considerado tóxico que se difere dos demais pois não é sintetizado pelo homem, por este fato recebe atenção especial, sendo considerado um problema reconhecido mundialmente por causar sérios riscos à saúde humana e ao ambiente.

A disponibilidade de cobre no solo é variável, dependendo de vários fatores, dentre os principais pode-se destacar o pH do solo, teor de matéria orgânica e teor de argila, sendo este último um dos principais fatores que influenciam na disponibilidade e absorção desse elemento pelas plantas (GABOS et al., 2011).

A textura do solo influencia na disponibilidade desse micronutriente nos horizontes do solo em Latossolos e Argilossolos brasileiros, já em solos arenosos há uma tendência desse elemento se encontrar mais disponível pela baixa capacidade desses em reter íons sendo mais susceptível a contaminação (MIOTTO et al., 2014).

O trigo cultivado atualmente no Brasil tem origem na Ásia e no Oriente Médio e pertence à família Poaceae do gênero *Triticum*, é um dos mais importantes grãos para a humanidade, pela extensão de área cultivada, além da produção de grãos para o comércio mundial fornecendo grande parte da proteína e amido para a dieta humana.

As micorrizas são associações simbióticas mutualísticas entre fungos do solo e inúmeras espécies de plantas vasculares, cerca de 80% das plantas realizam associações simbióticas com esses fungos. Dentre os benefícios gerados pela associação simbiótica entre fungos micorrízicos e plantas, destaca-se a função de proteção da toxicidade de metais pesados, onde estes microrganismos possuem a capacidade de compartimentalizar elementos tóxicos nos esporos, diminuindo sua disponibilidade às raízes das plantas. Por

essa característica, torna-se importante o uso de fungos micorrízicos arbusculares associado com espécies vegetais em locais onde há contaminação por metais pesados, especialmente pelo cobre (SMITH e READ, 2008).

As Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP) estão compreendidas em um grupo de microrganismos benéficos para as plantas e são importantes devido a capacidade de colonizar superfícies radiculares da rizosfera. Esses microrganismos estimulam o crescimento dos vegetais através de processos como a Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) e síntese de hormônios para as plantas (COHEN et al., 2015).

Várias estratégias vêm sendo utilizadas com a finalidade de integrar conhecimentos que possam ajudar na utilização de solos contaminados com metais pesados, possibilitando o retorno do solo a sua estabilidade e funcionabilidade do ecossistema. Dentre essas estratégias a fitorremedição é uma das alternativas viáveis adotadas, onde o exesso de metais pesados são retirados do solo e acumulados nos tecidos das plantas (CUNDY et al., 2013). Porém, não são todas as espécies que possuem capacidade de retirar esses metais do solo, portanto estudos devem ser realizados com finalidade de identificação das espécies, bem como suas características de crescimento, desenvolvimento e assimilação, para saber se determinada espécie pode ser utilizada para este fim (TANGAHU et al., 2011; MELO, 2013).

Nesse sentido as hipóteses que norteiam o desenvolvimento deste estudo são: A textura do solo influencia na extração de Cu e consequentemente no desenvolvimento de plantas de trigo; A inoculação de fungos micorrízicos possibilita o desenvolvimento do trigo em solo contaminado com cobre; A co-inoculação fungos micorrízicos e bactérias promotoras de crescimentro de plantas (BPCP) auxiliam no desenvolvimento de plantas de trigo em solo contaminado com cobre.

Para atender as hipóteses deste trabalho foram implantados três experimentos, sendo que o primeiro teve como objetivo avaliar a influência da textura de solo na toxidez de cobre e na capacidade de desenvolvimento do trigo em solo contaminado com esse metal; o segundo, avaliar o efeito da inoculação de três espécies de fungos micorrízicos no crescimento e acúmulo de cobre em plantas de trigo em solo contaminado com cobre; e no terceiro determinar a influência da co-inoculação de fungos micorrízicos e bactéria promotora de crescimento de plantas no crescimento e acúmulo de cobre pela cultura do trigo cultivado em solo contaminado com cobre. O objetivo geral foi analisar a influência de diferentes texturas de solo, de espécies de fungos micorrízicos e de bactérias

promotoras de crescimento de plantas na tolerância e acúmulo de cobre em plantas de trigo cultivadas em solo contaminado com esse metal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TRIGO

O trigo (*Triticum Aestivum*) tem seu centro de origem na Ásia e no Oriente Médio, é um cereal que tem elevada importância na alimentação humana, não somente pela área cultivada, como também pela produção e proporção no comércio mundial de grãos, além de fornecer grande parte da proteína e amido necessários à dieta humana. Esse cereal é o segundo mais produzido no mundo, sendo que em diversos países é uma das principais fontes de calorias e proteínas consumida pela população (WANG et al., 2012). Os registros do surgimento desta cultura datam do período antes de cristo, onde com o passar dos anos, a tecnologia de produção deste cereal disseminou-se pelo mundo (BRUM e HECK, 2005).

Apontado como um dos cereais mais produzidos no mundo (BELTRANO et al., 2006), devido ao seu alto consumo nos mais diversos países, o trigo também é uma das principais matérias-primas brasileiras, com elevados valores financeiros envolvidos no seu cultivo e nos vários produtos industriais fabricados a base desse grão. Destaca-se não apenas pelas suas características tecnológicas, mas também pela inserção e valorização dos sistemas de produção regionais, agregando assim renda as propriedades agrícolas, no abastecimento do mercado interno e no papel de produtos relevantes nas transações comerciais brasileiras com outros países (MADEIRA, 2014).

No Brasil, o trigo se desenvolveu com a vinda dos colonizadores europeus para o continente americano, há relatos que o cultivo se iniciou no ano de 1534 na Capitania de São Vicente. A cultura começou a se expandir comercialmente a partir de 1940 no Estado do Rio Grande do Sul. Contudo, foi inicialmente cultivado em solos pobres nutricionalmente e com altos teores de alumínio tóxico e assim, sua expansão ocorreu para o norte e oeste do Paraná por volta de 1969, levando este Estado à liderança na produção dessa cultura no Brasil (EMBRAPA, 2009).

É considerada a cultura de maior importância implantada no inverno, cultivada principalmente na região Sul, Sudeste e Centro-Oeste, no entanto, em razão da alta

demanda por este cereal, ainda depende de importações para suprir o mercado interno (COSTA e ZUCARELI, 2013).

Cerca de 90% da produção nacional está concentrada nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná, com média de quatro milhões de toneladas (CONAB, 2013). Este montante representa cerca de 50% do consumo interno, fazendo assim do Brasil um dos principais países importadores desse cereal. Visando tetos produtivos mais elevados, é necessário desenvolver pesquisas na busca de cultivares mais produtivas, maior tolerância a fatores bióticos e abióticos, aproveitamento de luz e nutrientes e de maior qualidade de grãos (SCHMIDT et al., 2009; FREO et al., 2011; CONAB, 2019).

A cultura do trigo assume elevada importância no país, devido à crescente demanda do cereal pela população brasileira, na safra 2020/21 a produção do Brasil foi de aproximadamente 6,3 milhões de toneladas, sendo que, para suprir a demanda interna, em janeiro de 2021 foram importadas 643,9 mil toneladas deste grão (CONAB, 2021).

De acordo com o 4º Levantamento de Safras da Conab, divulgado no início de janeiro/2019, a respeito dos números relativos a safra 2018/19, se estima um aumento da área plantada, e produção nacional de trigo. A safra brasileira deverá atingir um total de 5.427,6 mil toneladas na safra 2018/19, volume 27,3% superior ao registrado na temporada 2017/18 (CONAB, 2019).

2.2 COBRE E ÁREAS CONTAMINADAS

O cobre é um micronutriente que em condições naturais está presente no solo pelas características do material de origem. É um elemento essencial para o desenvolvimento de vegetais, participando de vários processos metabólicos nas plantas (TAIZ et al., 2017), porém tanto a deficiência (HAQUE et al., 1993; MARSCHNER, 1995) quanto a toxidez de cobre (LINDON e HENRIQUES, 1991; MOOCQOT et al., 1996) ocasionam redução na taxa fotossintética das plantas.

Existem várias fontes artificiais com potencial para o acúmulo desse elemento no solo, dentre elas destaca-se as emissões industriais, mineração, efluentes, uso de pesticidas, fertilizantes e uso de dejetos animais (HLADUN et al., 2015; MACKIE; MÜLLER; KANDELER, 2012). Quando liberados no solo, os rejeitos sofrem diversas transformações químicas, liberando o cobre para a solução do solo, podendo ficar de forma disponível causando toxidez para microrganismos e plantas, sendo um dos

principais contaminantes do solo e águas, ou poderá ser adsorvido na fração argila e na matéria orgânica do solo (ANDREAZZA et al., 2010).

Nos solos, o cobre (Cu) está presente em quantidades variáveis, dependendo da composição da rocha matriz, variando de 2 a 100 mg kg^{-1}. Este metal ocorre na forma de sulfetos que se intemperizam, liberando o íon Cu^{+2} e seus complexos. Os complexos formados com ácidos fúlvicos, por apresentarem maior acidez e menor peso molecular, são mais solúveis, porém quando em baixa concentração no solo, esse metal é imobilizado pelos ácidos húmicos (CAMARGO, 1988).

O conceito de áreas contaminadas é designado a locais que podem configurar riscos à saúde pública e ao meio ambiente, conforme a resolução n° 420, de 28 de dezembro de 2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2009), e o valor orientador definido como limite máximo para cobre total em áreas agrícolas, sem que haja intervenção, é de 200 mg kg^{-1} (CONAMA, 2009). Entretanto, a Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) indica um valor orientador de referência de qualidade (VQR) de 203 mg kg^{-1} 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 (FEPAM, 2014).

O aumento no teor de cobre no solo pode ocorrer com o passar dos anos de forma natural, devido ao intemperismo sofrido pelas rochas oriundas de materiais de origem que contenha metais pesados em sua constituição (HUGEN et al., 2013). Quando se pensa no estado do Rio Grande do Sul a maioria dos solos contaminados com cobre estão localizados em regiões de cultivo de vitivinicultura na serra do Nordeste e em áreas de mineração na serra do Sudeste (ANDREAZZA et al., 2014).

Nas plantas, o cobre tende a se acumular nas raízes e sua mobilidade é restrita, em partes, podendo sair das folhas velhas para as mais novas. O transporte desse elemento ocorre via xilema e floema em forma orgânica quelatizado por aminoácidos. A mobilidade depende do teor deste nos tecidos, sendo que em plantas bem nutridas pode ser translocado até os grãos, enquanto que, em plantas deficientes seu movimento é menor (SILVA et al., 2009), podendo também em elevadas concentrações no solo, levar ao atraso na germinação de sementes e redução no desenvolvimento de raízes e mudas (SETHY e GHOSH, 2013).

2.3 DISPONIBILIDADE DE COBRE NO SOLO

Os solos apresentam diferentes formas de disponibilizar os elementos minerais nele presentes para as plantas, podendo variar com o pH da solução, com as propriedades químicas e físicas do solo, e em especial com o teor de argila e matéria orgânica (GABOS et al., 2011).

A utilização de compostos que aumentam os níveis de matéria orgânica no solo reduzem a disponibilidade de metais através de reações de adsorção e complexação em decorrência da presença de substâncias ricas em grupos funcionais com cargas negativas em sua constituição, tais como ácidos carboxílicos, hidroxilas fenólicas e alcoólicas (MOREIRA et al., 2012). Com a redução dos níveis de disponibilidade, através dos constituintes da matéria orgânica, favorece o estabelecimento e desenvolvimento de plantas em locais com altos níveis de contaminação (GABOS et al., 2011), pois a matéria orgânica é considerada o principal ligante de metais pesados (JORGE e SILVA, 2010).

O pH da solução é outro fator que influencia na solubilidade de cobre. Solos com pH acima de 6,0 podem induzir à deficiência desse micronutriente para as plantas, pois ocorre a precipitação desse elemento como hidróxido de Cu (MCBRIDE et al., 1997). Quando disposto em solos argilosos, o cobre fica fortemente retido, principalmente pela ligação específica com grupos OH na lâmina octaedral nas argilas silicatadas, agravando mais ainda sua disponibilidade para as plantas (ELLIS e KNEZEK, 1972).

O cobre em excesso é um problema ambiental, que em solos arenosos torna-se ainda mais grave. Solos que apresentam baixa porcentagem de argila, óxidos e matéria orgânica, apresentam capacidade reduzida de retenção de cátions (MIOTTO et al., 2014). Com isso a maior parte do cobre adicionado ao solo resulta em formas disponíveis (BRUNETTO et al., 2014).

2.4 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (FMAs)

Os fungos micorrízicos arbusculares são organismos biotróficos obrigatórios pertencentes ao subfilo Glomeromycotina (SPATAFORA et al., 2016) e estão presentes em quase todas as famílias de plantas cultivadas na agricultura, com exceção das Brassicaceas que não formam micorrizas (VALADARES; MESCOLOTTI; CARDOSO, 2016). Esses fungos representam um helo fundamental entre as plantas e os nutrientes

minerais do solo e estão ganhando interesse como fertilizantes naturais (BERRUTI et al., 2016).

Os fungos micorrízicos apresentam capacidade em realizar interações simbióticas mutualistas com as raízes das plantas favorecendo a absorção de água e nutrientes, além de aumentar a tolerância das plantas a estresses bióticos e abióticos (CRISTINO et al., 2019). Estes fungos apresentam estruturas denominadas hifas, que atuam como uma extenção do sistema radicular das plantas, sendo de extrema importância para a absorção de água e nutrientes, além de atuar na estruturação do solo, tolerância a estresses abióticos e resistência a doenças (SMITH e READ, 2008; CARDOSO e ANDREOTE, 2016).

O desenvolvimento de fungos micorrízicos arbusculares ocorre principalmente em ecossistemas tropicais, onde o solo possui baixa disponibilidade de nutrientes. Além disso, depende de vários fatores ambientais, tais como disponibilidade de nutrientes, pH do solo, temperatura, água, ar, luminosidade, fisiologia da planta hospedeira, interação com os microrganismos de solo e a toxidade de produtos químicos (CHU et al., 2001; SANTOS, 2006).

O efeito dos fungos micorrízicos sobre o crescimento das plantas é especialmente significativo com relação aos nutrientes de baixa mobilidade no solo, que se movem preferencialmente por difusão, processo extremamente lento. Dentre estes nutrientes, destacam-se o macronutriente fósforo (P) e os micronutrientes zinco (Zn) e cobre (Cu) (VALADARES; MESCOLOTTI; CARDOSO, 2016).

Conforme a espécie de fungo, a formação da micorriza pode apresentar elevada tolerância a metais pesados pelas plantas. Essa característica é atribuída pela habilidade dessas associações em reter metais no micélio fúngico, diminuindo assim a translocação para os demais tecidos das plantas (CABRAL et al., 2010; ROSA et al., 2015). Determinadas espécies de fungos acumulam altas concentrações de metais pesados em seus corpos de frutificação, na parede celular ou em compartimentos internos (MARTINS et al., 2017; FOLI-PERREIRA et al., 2012; BELLION et al., 2006).

A habilidade de reter metais é atribuida à mecanismos e processos externos às hifas, através de ligação a polímeros da parede celular e processos internos nas células dos fungos, em que os metais podem ser complexados e compartimentalizados o que impede a absorção radicular (CABRAL et al., 2010).

2.5 BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL

As bactérias promotoras de crescimento vegetal são microrganismos que colonizam a rizosfera e tecidos internos de plantas promovendo direta ou indiretamente o seu crescimento. Essas bactérias podem produzir fito-hormônios e substâncias osmorreguladoras, que levam à proteção e ao aumento do sistema radicular, e consequentemente, maior absorção de água e nutrientes do solo (COHEN et al., 2015).

Na agricultura tropical, o elemento mais importante quando se busca altas produções é o nitrogênio, que compõe 80% da atmosfera, na forma de N_2, porém indisponível para as plantas (DÖBEREINER, 1997). Através do processo de fixação biológica alguns organismos procariontes conseguem assimilar o N atmosférico e transformá-lo em NH_3, sendo este processo responsável por aproximadamente 65% do N fixado na terra sendo considerado o segundo processo biológico mais importande depois da fotossíntese (SPATZAL et al., 2016; REPKE et al., 2013).

Dentre os microrganismos fixadores de N que realizam associações com raízes de plantas gramíneas se destaca a espécie do gênero *Azospirillum* como um dos grupos mais estudados (REPKE et al., 2013), principalmente na cultura do milho e trigo. Possui função de fixar biologicamente o nitrogênio, além de aumentar a superfície de absorção das raízes da planta e, consequentemente, o volume de solo explorado (MILLÉO e CRISTÓFOLI, 2016).

Há relatos de associação de trigo com bactérias do gênero *Azospirilum brasilense*, onde evidenciam que as bactérias se ligam à superfície externa da raíz para colonizar a rizosfera (VINHAL-FREITAS e RODRIGUES, 2010). Estudos mostram que a inoculação com *Azospirillum brasilense* proporciona melhor nutrição e desenvolvimento da cultura do milho, com incremento na produtividade de grãos (SOUZA et al., 2019). Além disso, favorece o aumento do número de fileiras de grãos, números de grãos por fileira e massa de mil grãos (SCHAEFER, 2015).

Estudos vem demosnstrando que além da capacidade de fixar N_2, o gênero *Azospirillum* possui diversas outras propriedades, que promovem o crescimento vegetal, dentre elas se destaca a síntese de fito-hormônios e outros compostos como, auxina, citocinina, giberelina, ácido abcísico, etileno e ácido salicílico (PEDRAZA, 2008). Esses hormônios interagem diretamente com o crescimento das raízes, melhorando a capacidade de absorção de água e nutrientes da solução do solo. Além disso, o gênero *Azospirillum*, quando associado à raízes de vegetais, promove maior resistência a estresses abióticos como salinidade, seca e alivia os efeitos de compostos excessivos e metais pesados no solo (FUKAMI; CEREZINI; HUNGRIA, 2018). Além de auxiliar na

fixação biológica de nitrogênio, o *Azospirillum spp.* interfere também no aumento da superfície de absorção das raízes, e consequentemente, no aumento no volume de substrato explorado (MILLÉO e CRISTÓFOLI, 2016).

3 CAPÍTULO 1: TOLERÂNCIA E BIOACOMULAÇÃO DE COBRE EM TRIGO CULTIVADO EM SOLO COM DIFERENTES TEXTURAS

3.1 RESUMO

O cobre, quando em altas concentrações é um dos principais metais pesados poluentes no solo. Sua biodisponibilidade no solo sofre influência do teor de argila, devido sua adsorção e reações de complexação aos argilominerais. Objetivou-se neste trabalho avaliar a influência da textura de solo na toxidez de cobre e capacidade de desenvolvimento do trigo em solo contaminado com esse metal. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em aranjo bifatorial (6 x 4), sendo seis doses de cobre (0 (zero), 80, 160, 240, 320 e 400 mg de cobre kg^{-1}) quatro texturas de solo (17.5, 35, 52.5 e 70 % de argila), com oito repetições. As avaliações realizadas foram altura de plantas, n° de perfilhos, comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca de da parte aérea, massa seca de raiz, massa seca total, teor de cobre na raiz, parte aérea e grão, cobre pseudo-total no solo, índice de tolerância e translocação, fator de bioacumulação e bioconcentração. A parte aérea e o sistema radicular do trigo são reduzidos em altas concentrações de cobre no solo. Solos arenosos favorecem a translocação de cobre para o grão de trigo em áreas contaminadas com este metal. Solos mais argilosos reduzem a bioconcentração e bioacumulação de cobre na cultura do trigo quando comparado a solos mais arenosos. Solos argilosos conferem maior índice de tolerância de cobre para o trigo em comparação com solos arenosos.

Palavras-chave: Trigo. Textura de solo. Cobre.

3.2 ABSTRACT

Copper, when in high concentrations, is one of the main pollutant heavy metals in the soil. Its bioavailability in the soil is influenced by the clay content present, due to its adsorption and complexation reactions with the soil. The objective of this work was to evaluate the influence of soil texture on copper toxicity and the development capacity of wheat in soil contaminated with this metal. The experimental design was completely randomized in a bifactorial arrangement (6 x 4), with six doses of copper (0 (zero), 80, 160, 240, 320 and 400 mg of copper kg-1) and four soil textures (17.5, 35, 52.5 and 70% clay), with eight repetitions. The evaluations carried out were plant height, number of tillers, root length, root volume, shoot dry matter, root dry matter, total dry matter, copper content in the root, aerial part and grain, pseudo copper -total in the soil, tolerance and translocation index, bioaccumulation factor and bioconcentration. The aerial part and the root system of the wheat are reduced in high concentrations of copper in the soil. Sandy soils favor the translocation of copper to the wheat grain in areas contaminated with this metal. More clayey soils reduce copper bioconcentration and bioaccumulation in wheat when compared to more sandy soils. Clay soils provide a higher copper tolerance index for wheat compared to sandy soils.

Key-words: Wheat. Soil texture. Copper.

3.3 INTRODUÇÃO

O cobre é um elemento químico que ocorre de forma natural no solo, sendo considerado um micronutriente essencial para as plantas, participando do metabolismo e atuando como parte estrutural de algumas enzimas (MARQUES et al., 2018). O cobre atua nas plantas como um ativador de enzimas que participam de reações de oxirredução, em processos fisiológicos como a fotossíntese, respiração, fixação biológica de nitrogênio, redução do nitrato, metabolismo de proteínas, formação da parede celular, síntese de DNA e RNA (MARSCHNER, 2011). Sua deficiência pode provocar diversas alterações nas plantas, inclusive a redução na produtividade (GONÇALVES et al., 2019).

Contudo, níveis elevados de cobre no solo podem causar distúrbios fisiológicos, bioquímicos e morfo-anatômicos em plantas, inibindo o seu desenvolvimento (MARQUES et al., 2018). Além disso, pode atingir lençóis freáticos tornando-se poluente para a água e nocivo para os seres humanos (SANTANA, 2018; KABATA-PENDIAS, 2011). A toxidez por cobre pode provocar alterações na morfologia do sistema radicular como a redução do crescimento, aumento do diâmetro médio das raízes e sua lignificação. Essas alterações reduzem o volume de solo explorado pelas plantas, consequentemente, diminui a absorção de nutrientes e água, afetando o desenvolvimento das mesmas (DE CONTI, 2018).

As áreas com solos contaminados por cobre vêm aumentando ao longo do tempo, resultantes de atividades antrópicas, como o uso descontrolado de agrotóxicos, fungicidas, aplicação descontrolada de dejetos suínos, industrialização, mineralização e uso de resíduos urbanos (MATEOS-NARANJO et al., 2013). A quantificação das áreas contaminadas dos solos brasileiros se apresentam de forma isolada, aplicada a uma área de estudo. As informações disponíveis são provenientes principalmente de estudos agronômicos voltados à finalidade produtiva do solo (GRIEBELER et al., 2017).

Entretanto, quando bem manejadas várias fontes cosideradas poluentes apresentam alto potencial na produção agrícola. Vários estudos com dejetos líquidos de suínos demostram alto potencial, como fonte alternativa para redução de custos com adubações químicas (LOCATELLI et al., 2019; PINTO et al., 2014; MORAES et al 2014; ROCHA et al., 2014; RIBEIRO et al., 2018; PANISON et al., 2019) demostrando em seus estudos que aplicações parceladas de dejetos liquidos de suínos, reduzem custos com fertilizantes minerais e aumentam a produtividade de milho e trigo.

A disponibilidade de elementos para as plantas, depende da sua concentração na solução do solo, pelas condições de oxirredução, cinética das reações, que dependem de atributos do solo tais como, disponibilidade de nutrientes, intemperismo do solo, pH da solução, propriedades físicas e químicas como teor de matéria orgânica, quantidade de argila e de suas tendências para formar precipitados insolúveis com outros materiais (ALLEONI; BORBA; CAMARGO, 2005; SANTOS et al., 2004). Matéria orgânica, óxidos e hidróxidos de Fe e Al e teor de argila são as propriedades do solo mais significativas que influenciam as reações de sorção (BOLAN e DURAISAMY, 2003). O teor de argila é considerado um dos principais fatores responssáveis pela variação na adsorção de metais nos horizontes dos solos, formando complexos de esfera interna impedindo a absorção de cobre pelas plantas (SILVEIRA et al., 2002). Desse modo, estudos que visem estabelecer níveis críticos de cobre, de acordo com a textura do solo, são imprensidíveis para definir o teor disponível desse elemento que realmente afeta o crescimento da planta.

O trigo é um dos cereais mais produzidos no mundo (BELTRANO et al., 2006), seu consumo é a base da alimentação de vários países e uma das principais matérias-primas brasileiras. Destaca-se não apenas pelas suas características tecnológicas, mas também pela inserção e valorização dos sistemas de produção regionais, agregando assim renda as propriedades agrícolas, abastecimento do mercado interno e no papel de produtos relevantes nas transações comerciais brasileiras com outros países (MADEIRA, 2014).

Desse modo, sendo as condições de solo, clima e topografia favoráveis ao cultivo de trigo, estas fazem do Brasil um país de enorme potencial para a expansão dessa cultura na atualidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da textura de solo na toxidez de cobre e capacidade de desenvolvimento do trigo em solo contaminado com esse metal.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido em ambiente protegido, em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Engenharia Florestal do Campus da UFSM Frederico Westphalen, RS.

O solo utilizado no experimento foi coletado de horizonte superficial (horizonte A) e caracterizado como Latossolo Vermelho aluminoférico (DOS SANTOS et al., 2018). Para a elaboração de solos com diferentes teores de argila, seguiu-se a metodologia

proposta por Gatiboni et al., (2014). O solo utilizado continha inicialmente 70% de argila, com o intuito de elaborar as diferentes texturas foram realizadas misturas de areia e solo, sendo adicionado areia nas proporções de: 75, 50, 25 e 0 (zero). Ao final do processo os solos elaborados apresentaram teores de 17,5, 35, 50, e 70% de argila respectivamente.

Após a coleta, o solo foi seco em estufa, moído e peneirado em malha de 2 mm, sendo analisado no laboratório de química do solo, após o estabelecimento das texturas do solo,conforme metodologia descrita por Mann e Ritchie (1993) o cobre trocável e Tedesco et al. (1995), para os demais atributos, como descrito na Tabela 1.

Tabela 1: Teor de argila e atributos químicos dos solos utilizados para o cultivo do trigo.

----------Parâmetros----------								
Teor de Argila	pH 1:1	MO %	P	K	Mg	Al+H	Cu	Zn
			----------mg/dm^3----------					
70	6,05	1,00	0,90	28,44	2,68	2,02	8,4	0,55
52,5	5,94	0,90	0,85	24,97	1,92	1,85	8,1	0,59
35	5,97	0,85	0,86	21,67	1,65	1,74	7,4	0,6
17,5	6,10	0,80	0,78	19,45	1,22	1,71	6,9	0,58

A correção da acidez foi realizada com aplicação de calcário para elevar o pH em água à 6.5, agitando em saco plástico junto com o solo. Após esses processos, foi realizado a contaminação do solo com as determinadas doses de cobre, na forma de sulfato de cobre ($CuSO_{4.}\ 5H_2O$) sendo homogeneizados por agitação em saco plástico e posteriormente feita a incubação por 60 dias para estabilização dos solos artificiais.

A adubação foi realizada uma semana antes da semeadura do trigo, através de adubo químico formulado NPK 10-20-20 para espectativa de produtividade de 4 Mg há$^{-1}$ seguindo as recomendações SBCS (2016). Para cultivo das plantas, cada unidade experimental foi composta de um vaso de 5 litros com 5 kg de solo, contendo quatro plantas.

A cultivar de trigo utilizada foi a TBIO Sinuelo e a semeadura foi realizada na segunda quinzena de maio, em cada vaso foram semeadas 10 sementes, realizando-se o desbaste 15 dias após a germinação, deixando-se quatro plantas por vaso até o final do experimento. A irrigação foi controlada diariamente por sistema de gotejamento, de

acordo com a necessidade da cultura, mantendo-se o solo em 80% da capacidade de campo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (6 x 4), sendo seis doses de cobre (0 (zero), 80, 160, 240, 320 e 400 mg de cobre kg^{-1}) e quatro texturas de solo (17.5, 35, 52.5 e 70 % de argila), com oito repetições.

Foram realizadas avaliações morfológicas das plantas de trigo sendo essas: altura de plantas (AP) em cm, com medida do solo até a ponta da folha bandeira; n° de perfilhos, através da identificação da planta mãe e contagem dos demais perfilhos; comprimento de raiz (CR) em cm; volume de raiz (VR) com auxílio de proveta graduada; massa seca de parte aérea (MSA); massa seca de raiz (MSR); massa seca total (MST). A massa seca foi quantificada após secagem em estufa a 61°C até atingirem peso contante e pesadas em balança analítica.

A separação da parte aérea e radicular foi por meio de corte na região do hipocótilo. As raízes foram separadas do solo por meio de lavagem com água e com auxílio de peneiras de 0,5 e 1,0 mm de malha.

A massa seca da parte aérea e das raízes e grãos foram separados e moídos em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 10 mesh para a determinação dos teores de cobre através de digestão nítro-perclórica (3:1) e determinação em espectrofometria de absorção atômica, conforme descrito por Miyazawa et al., (2009). Também foi determinado o Cu total nos tecidos das plantas e a determinação dos teores pseudo-total no solo conforme a metodologia 3050b descrita em USEPA (1996).

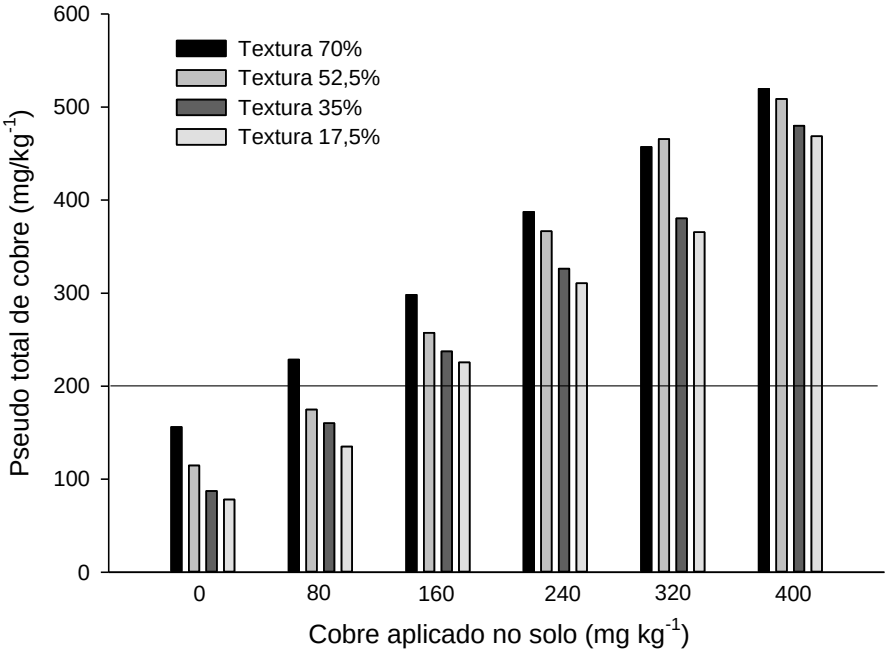
Com base na massa seca total (MST), nos teores de cobre (mg kg^{-1}) do sistema radicular (CuR) e da parte aérea (CuPA), nas quantidades acumuladas de cobre no sistema radicular (CuAR), na parte aérea (CuAPA), na dose zero de cobre (d0) e nas doses de 80 à 400 mg kg^{-1}, foi calculado o índice de tolerância (Itol), pela equação: Itol = (MSTdn/MSTd0)*100, que mede a capacidade das mudas crescerem em ambientes com elevada concentração de cobre (WILKINS, 1978) e o índice de translocação (Itra), com base na equação: Itra = (CuAPAdn/CuATdn)*100, que representa à porcentagem total absorvida de cobre que foi translocado para a parte aérea (ABICHEQUER e BOHNEN, 1998). O fator de bioconcentração foi determinado pela razão entre a concentração de metal na raiz (mg kg^{-1}) e a concentração pseudo-total no solo (mg $kg-^{1}$) e o fator de bioacumulação pela razão entre a concentração de metal na parte aérea (mg kg^{-1}) e a concentração pseudo-total no solo (mg kg^{-1}) (YOON et al., 2006).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativa, desdobraram-se os efeitos do fator qualitativo (textura) dentro de cada nível do fator quantitativo (doses de cobre) sendo as médias do fator qualitativo comparadas pelo teste de Scott-Knot e as do fator quantitativo por análise de regressão. Quando não significativa, analizou-se os efeitos simples de cada fator de variação, sendo o qualitativo pelo teste de Skott-Knot e o quantitativo por análise de regressão, utilizando-se para isto o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), tomando como base os níveis de significância maiores que 95%.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento das doses de cobre no solo resultou em incremento nos teores pseudo-totais do metal no solo em todas as texturas estudadas (Figura 1), sendo que a partir da dose de 80 mg de cobre kg^{-1} de solo para a maior textura (70 % de argila) e de 160 mg cobre kg^{-1} de solo para as demais texturas, os valores ficaram acima dos limites máximos permitidos em áreas agrícolas, pela resolução n° 420 (CONAMA, 2009), que é de 200 mg kg^{-1} e da (FEPAM, 2014) que tem valores de referência de 203 mg de cobre kg^{-1} para solos originados de rochas vulcânicas do Planalto do Rio Grande do Sul. Desse modo, os teores de cobre presentes nestes solos superam o limite de investigação para áreas agrícolas.

Figura 1: Teor pseudo-total de cobre em solos com diferentes texturas (17,5, 35 52,5 e 70% de argila), no final do cultivo de trigo, submetido a doses de cobre (0 (teor original de cobre no solo), 80, 160, 240, 320 e 400 mg de cobre kg-1 de solo).

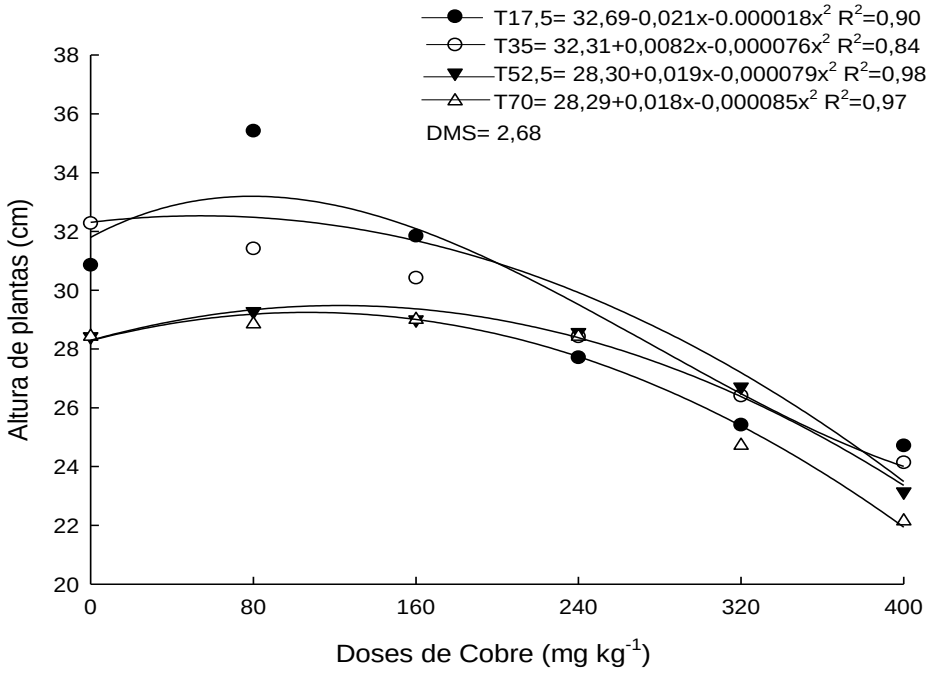


Os resultados evidenciaram interação significativa entre os fatores de variação dose de cobre e textura para as variáveis altura de plantas (AP), comprimento de raiz (CR), massa seca de raiz (MSR), volume de raiz (VR), número de perfilhos (NP), teor de cobre na parte aérea (CuA), fator de bioconcentração, fator de bioacumulação, índice de tolerância (ITOL) e índice de translocação (ITRA).

Ao avaliar as doses de cobre dentro de cada textura (Figura 2), evidencia-se que em doses menores de cobre, as texturas mais arenosas com 17,5 e 35% de argila favorecem a altura do trigo, porém sendo reduzido drasticamente a partir da dose 80 mg kg^{-1} de cobre no solo. O aumento na dose de cobre induziu a uma diminuição na altura de plantas em todas as texturas estudadas, sobretudo em solos mais arenosos, assim, solos com texturas mais arenosas possibilitam maior potencial de fitotoxidez por cobre em plantas de trigo.

A diminuição do crescimento de plantas em função de sua exposição a altos níveis de metais tóxicos no solo está amplamente relatada na literatura (SANITÀ-DI-TOPPI e GABBRIELLI, 1999; KABATA-PENDIAS e PENDIAS, 2000). Essas respostas estão relacionadas aos danos que esses metais causam no aparelho fotossintético, interferindo assim na biossíntese de clorofilas e na atividade de enzimas do ciclo de Calvin e do fotossistema II (DI CAGNO et al., 1999).

Figura 2: Equação de regressão para altura de plantas (AP) de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre no solo.

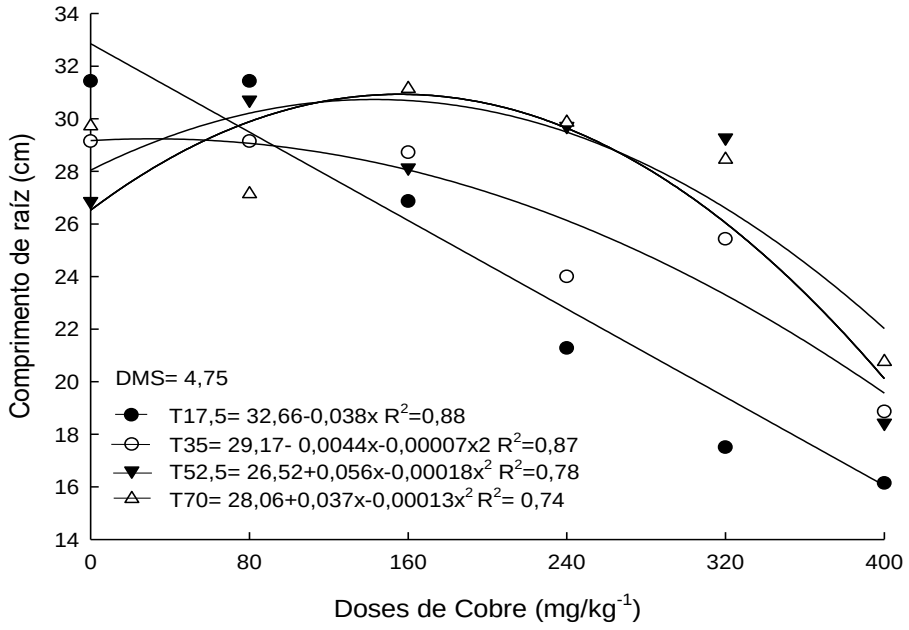


Os resultados evidenciaram interação significativa entre texturas de solo e doses de cobre para as variáveis comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca de raiz. O aumento nas doses de cobre aplicadas no solo acarretou em um ajuste de forma linear negativa para a textura 17,5%. Entretanto, as texturas mais argilosas, (35%, 52,5% e 70%), responderam de forma quadrática, com pontos de máxima nas doses 31,43 mg kg^{-1}, 155,55 mg kg^{-1} e 142,30 mg kg^{-1} de cobre no solo, respectivamente. Também se observou que a partir da dose 160 mg kg^{-1} todas as doses de cobre proporcionaram redução no comprimento de raiz do trigo, independente da textura de solo (Figura 3).

Como observado na Figura 3, evidencia-se que solos mais argilosos possibilitam um maior crescimento de raízes em doses de cobre mais elevadas. Quando comparado as texturas com as doses de cobre no solo, para a textura 17,5 nas doses 0 e 400 mg kg^{-1} de cobre pode-se observar redução de 49% no comprimento de raiz respectivamente, já quando observado o teor de 70% de argila no solo, verifica-se uma menor redução para as mesmas doses, em torno de 31%. Contudo, nota-se que para a dose zero, o comprimento de raiz do trigo foi superior em texturas mais arenosas. Quando em altas

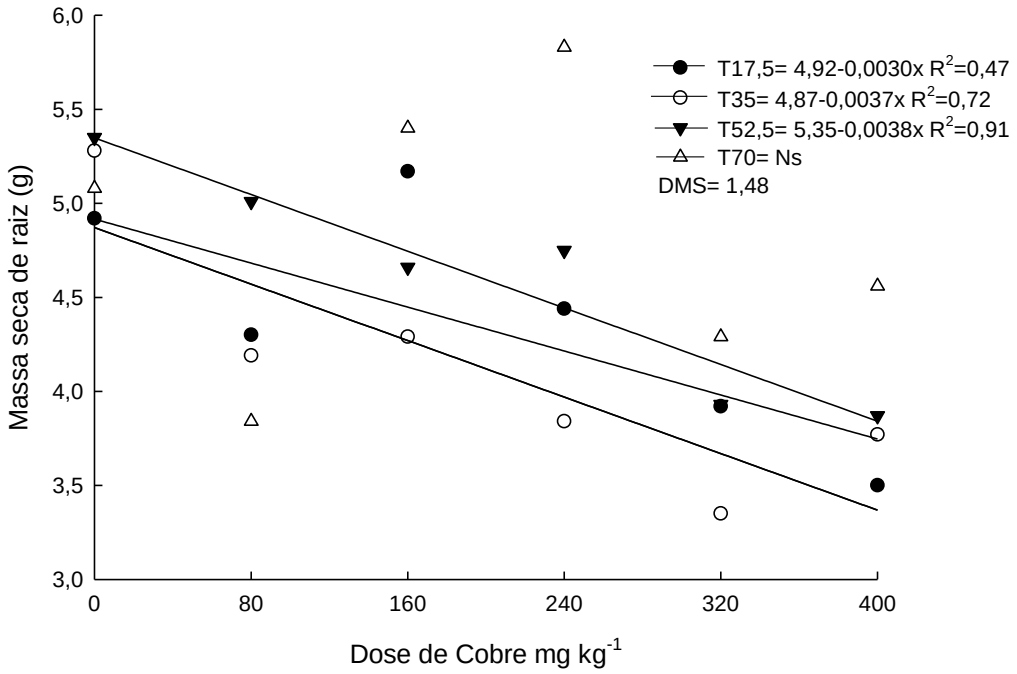
concentrações, o cobre pode causar efeitos tóxicos para as plantas, sendo a redução no crescimento radicular, um dos mais evidentes (DECHEN e NACHTIGALL, 2006).

Figura 3: Equação de regressão para comprimento de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre mg kg^{-1} de solo.



Em relação a massa seca de raiz, as texturas apresentaram regressão linear negativa em função das doses de cobre, com exceção da textura 70%, onde nenhum grau de polinômio para regressão foi significativo (Figura 4). As texturas 35 e 52,5% de argila se mostraram superiores, apresentando na dose 0 mg kg^{-1} de cobre, 5,28 e 5,35 gramas de massa seca de raiz, respectivamente. De forma geral, ao comparar as texturas, verifica-se que em solo com 52,5% de argila a massa seca radicular foi reduzida em 12%, já para 17,5 % de argila pode-se observar uma redução de 30% na massa seca radicular quando correlacionado a dose 0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo respectivamente. Em texturas mais arenosas, a capacidade do solo em reter íons diminui, ficando assim mais suscetível a contaminação e a toxidez nos vegetais (NASCIMENTO et al., 2020). Esses resultados corroboram com os encontrados por Vendrusculo (2013), que observou redução na massa seca de raiz em nove genótipos de aveia quando comparado as doses 0 e 600 mg kg^{-1} de cobre no solo, respectivamente.

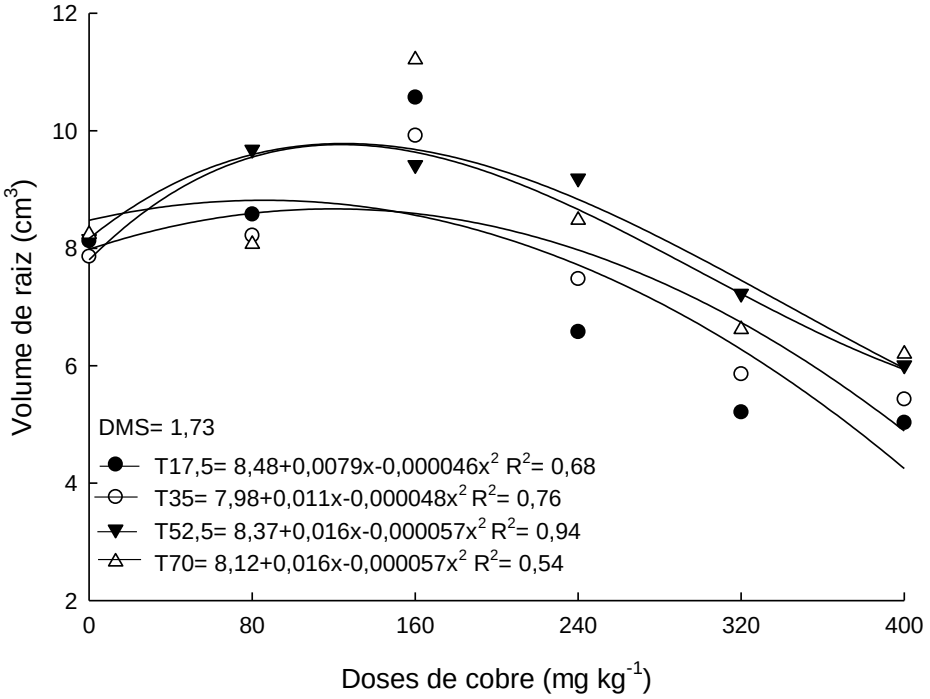
Figura 4: Equação de regressão para massa seca de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas de solo (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre em mg de cobre kg^{-1} de solo.



Todas as texturas apresentaram aumento quadrático para o volume de raiz, sendo que as mais arenosas (17,5%, 35%) apresentaram ponto de máxima em menores doses de cobre no solo, 85 e 114 mg kg^{-1}, enquanto as mais argilosas, (52,5% e 70%) apresentaram ponto de máxima na dose 140g kg^{-1} de cobre no solo, respectivamente (Figura 5).

O aumento no volume de raiz de trigo nas doses iniciais de cobre pode ser atribuído ao fato deste elemento ser considerado um micronutriente essencial para o desenvolvimento de plantas (TAIZ e ZEIGER, 2017).

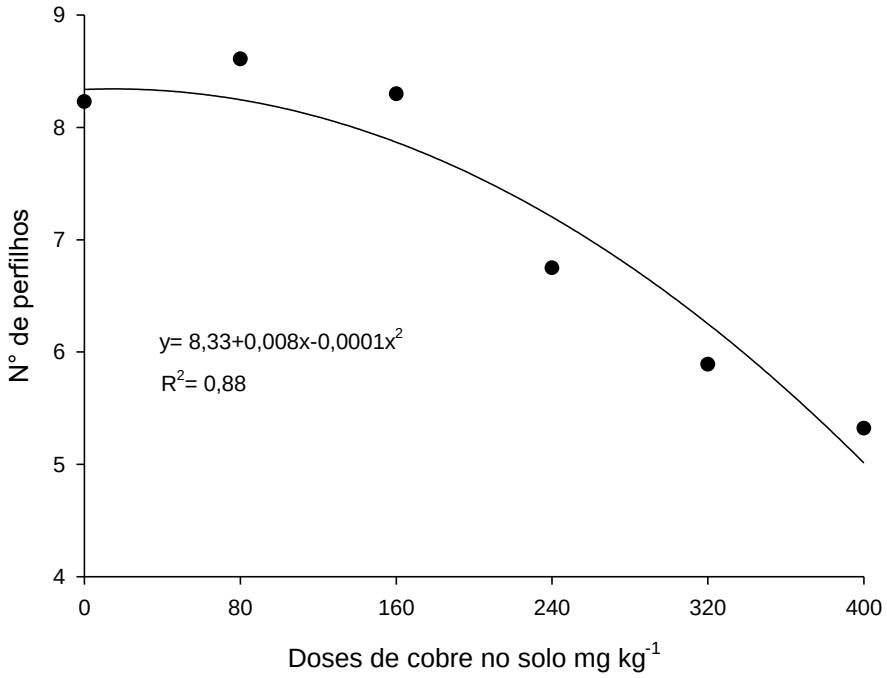
Figura 5: Equação de regressão para volume de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas de solo (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre em mg de cobre kg^{-1} de solo.



Quando comparadas as texturas de solo, nota-se que as mais argilosas (52,5 e 70%) apresentam significativamente maior volume de raiz de trigo que as demais texturas (Figura 5). Esta característica pode ser explicada pela maior afinidade de metais em formar complexos de esfera interna com a argila do solo, consequentemente reduzindo sua toxidez em níveis elevados deste elemento no solo (ALLEONI et al., 2005; MEDINA et al., 2018). Em altas concentrações de cobre, a redução no crescimento e no volume de raiz é um dos sintomas mais evidentes do efeito tóxico desse metal para os vegetais (KUKKOLA; RAUTIO; HUTTUNEN, 2000). Desse modo, as texturas mais argilosas tendem a beneficiar o volume radicular do trigo em doses mais elevadas de cobre.

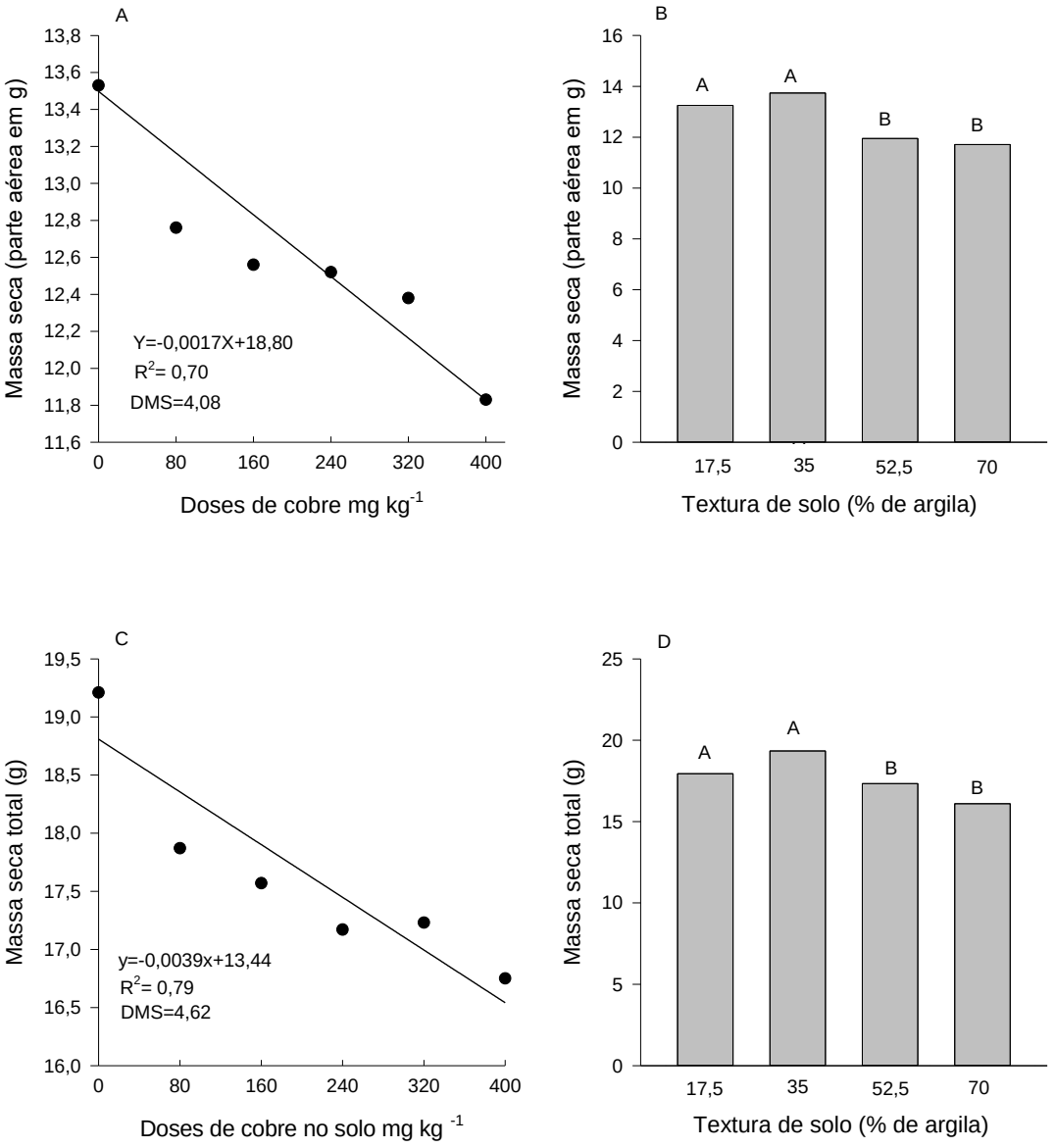
Não houve interação significativa para o número de perfilhos de trigo, verificando-se apenas efeito simples para as doses (Figura 6). Nota-se um aumento no número de perfilhos até o ponto de máxima na dose de 40 mg kg^{-1} de cobre no solo, demostrando a importância de pequenas doses desse metal para o crescimento e desenvolvimento de plantas, porém a partir do ponto de máxima, pode-se observar o efeito tóxico deste metal, reduzindo drasticamente o número de perfilhos. Estes resultados demostram que apesar do Cu ser um elemento essencial para o crescimento de plantas, exercendo papel importante em vários processos fisiológicos, quando em elevadas concentrações no solo, se torna um elemento tóxico para as plantas (MICHAUD et al., 2008; BRAVIN et al., 2010; GIROTTO et al., 2010).

Figura 6: Equação de regressão para número de perfilhos de raiz de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre mg kg^{-1} de solo.



Não houve interação significativa para massa seca da parte aérea e massa seca total do trigo, verificando-se apenas efeito simples para doses e texturas (Figura 7). A massa seca total de plantas de trigo apresentou redução linear com as doses de cobre (Figura 7 C). A literatura indica que a massa seca de aveia é drasticamente reduzida com o aumento no teor de cobre no solo (CERRETA et al., 2002; CRUSCIOL et al., 2008; MELLO et al., 2011; PANZIERA et al., 2018), possivelmente em virtude da toxidez desse metal no crescimento vegetal (ZORTÉA et al., 2016). Em elevadas concentrações, o cobre pode causar cloroses internervais nas folhas, prejudicando a absorção de ferro e outros nutrientes, reduzindo o desenvolvimento de plantas (MICHAUD et al., 2008).

Figura 7: Equação de regressão para os efeitos simples doses de cobre no solo (A e C) e comparação de médias para texturas do solo (B e D) para massa seca da parte aérea e total de trigo.



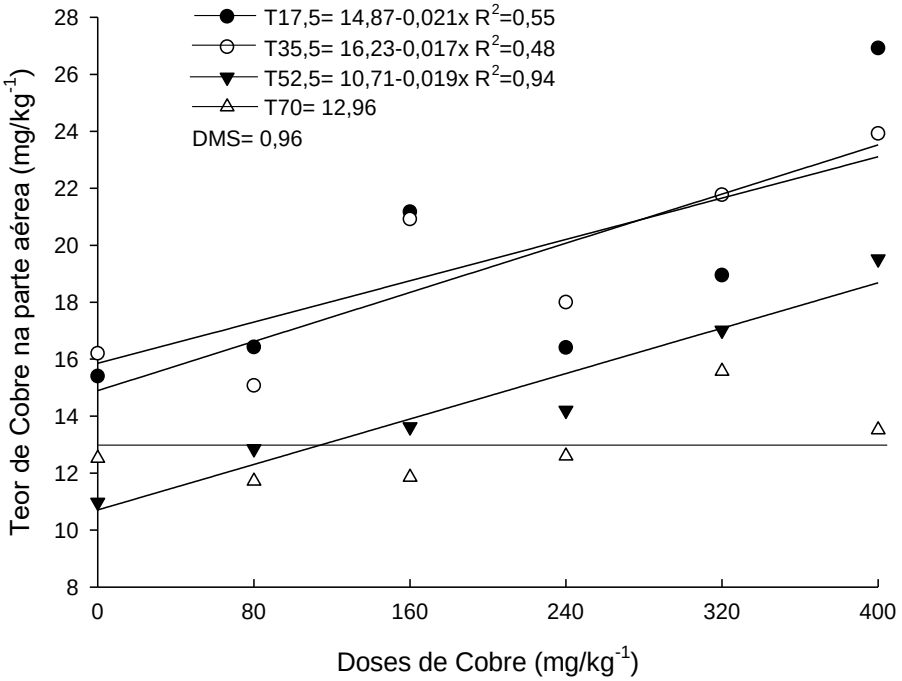
Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra maiúscula entre as texturas de solo, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

A massa seca da parte aérea e total do trigo (Figura 7B e 7D) foram maiores nas texturas mais arenosas (17,5 e 35 % de argila) quando comparado a solos com texturas mais argilosas (52,5 e 70 % de argila). A literatura indica redução na massa seca de aveia e trigo quando cultivados em teores acima de 100 mg kg^{-1} de cobre no solo (MELLO et al., 2011; PANZIERA et al., 2018; MICHAUD et al., 2007; MICHAUD et al., 2008). A

cultura do trigo se desenvolveu melhor nas texturas mais arenosas em razão do menor teor de cobre pseudo-total presente nos tratamentos (Figura 1).

Os resultados demostraram interação significativa entre doses de cobre e texturas de solo para o teor de cobre (mg kg^{-1}) na parte aérea do trigo, aumentando de forma linear com as doses de cobre no solo nas texturas estudadas, com exceção do tratamento com 70% de argila (sem ajuste de modelo de regressão), sendo maior nas texturas mais arenosas (Figura 8). A mobilidade de metais, geralmente é maior em solos mais arenosos (MEDINA et al., 2018). Isso possibilita maior absorção do cobre pela planta e sua translocação para parte aérea do vegetal.

Figura 8: Equação de regressão para o teor de cobre na parte aérea de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre no solo.

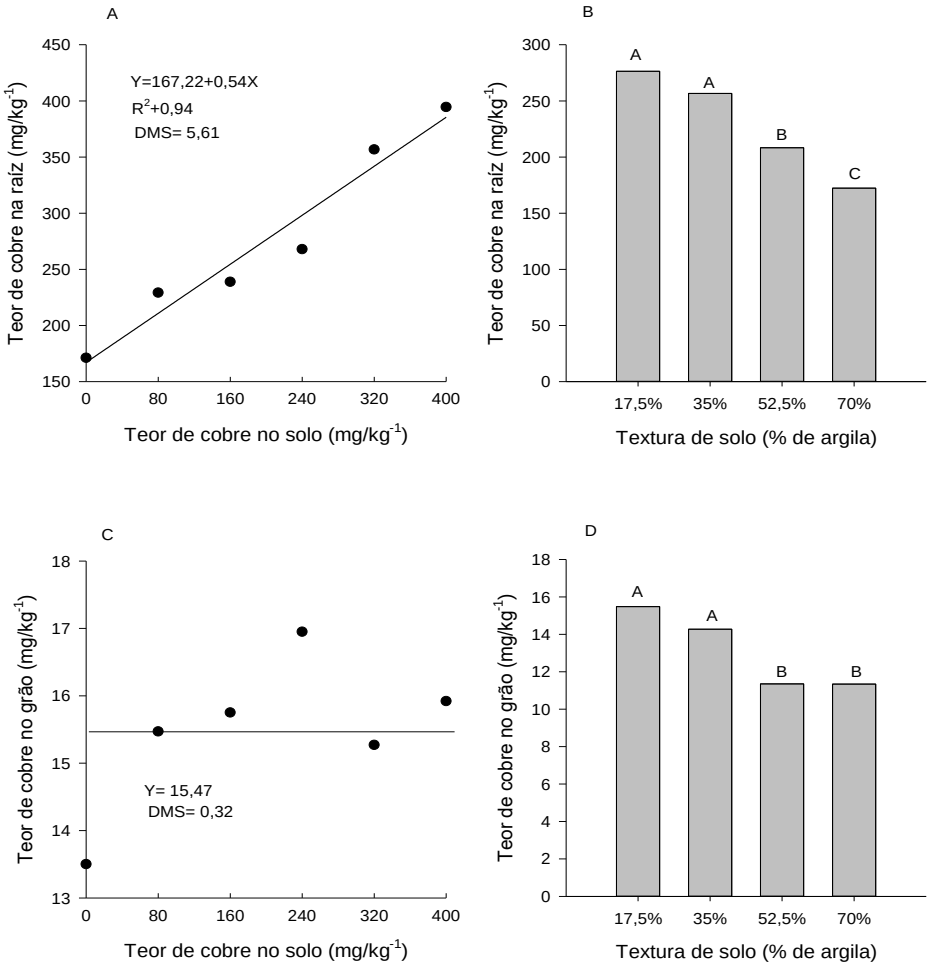


Não houve interação entre doses e texturas de solo para o teor de cobre na raiz e no grão do trigo, apenas efeito simples significativo (Figura 9). O teor de cobre na raiz aumentou de forma linear com as doses de cobre (Figura 9 A), enquanto a textura mais arenosa de 17,5% possibilitou maior teor de cobre (Figura 9 B). Uma das estratégias de tolerância das plantas é a absorção de metais pesados e seu acúmulo nas raízes (CHANEY e OLIVER 1996). Porém, plantas expostas a altas doses de cobre no solo não conseguem

evitar o acúmulo nas raízes, afetando a translocação e distribuição no ciclo biológico dos vegetais, oferecendo risco a saúde humana quando consumidos (GARBISU e ALKORTA, 2001; MARTINS et al., 2003; RANGEL et al., 2006). Isso acaba limitando o crescimento de plantas conforme evidenciado nas Figuras 2 e 7.

Figura 9: Equação de regressão e comparação de médias para as variáveis teor de cobre na raiz e grão de trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70%) e doses de cobre mg kg^{-1} no solo.

.



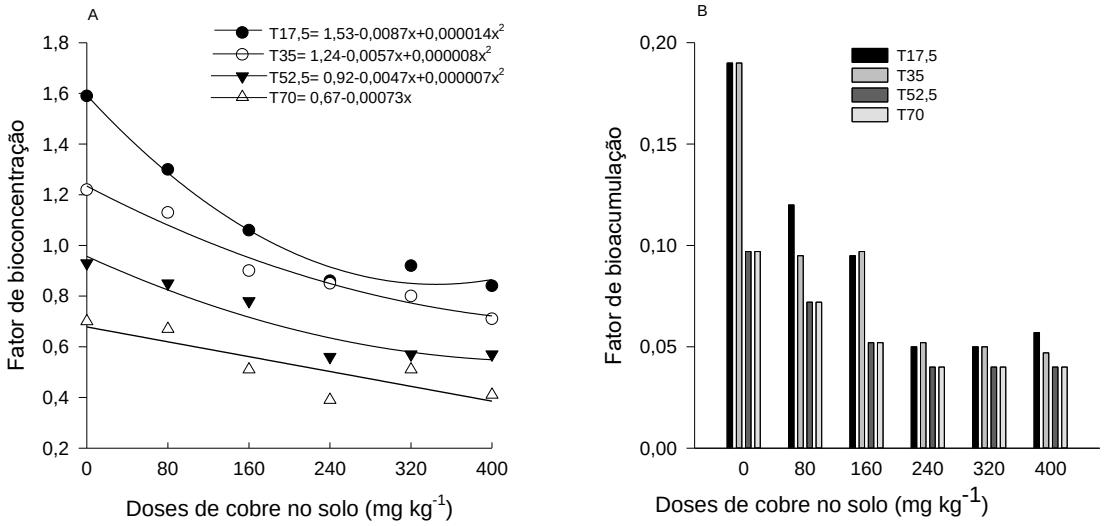
Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra maiúscula entre as texturas de solo, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

Para o teor de cobre no grão de trigo não foi possível ajuste de nenhum modelo de regressão para as doses de cobre, com valor médio de 15,47 mg kg^{-1} de cobre (Figura 9 C). Quanto a textura, observa-se que solos com texturas mais arenosas possibilitam maior teor de cobre para o grão de trigo (Figura 9 D). De acordo com o decreto n° 55.871, de

26 de março de 1965 (ANVISA, 1965), o limite máximo de tolerância (LMT) em alimentos (matéria seca) para o Cu, é de 30 mg kg^{-1}. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação (ABIA, 1985) os LMT para Cu permitido em grãos também é 30 mg kg^{-1}. Com base nessas informações observou-se que os teores de cobre nos grãos de trigo em todos os tratamentos, encontram-se abaixo do LMT estabelecido na legislação brasileira.

Houve interação significativa entre as doses e textura de solo para o fator de bioconcentração (Figura 10). Nos solos com textura 17,5 e 35% de argila o fator de bioconcentração reduziu de forma quadrática com as doses de cobre, sendo superior a uma unidade até as doses 160 e 80 respectivamente, enquanto no solo com 52,5 e 70 % de argila o fator de bioconcentração não alcançou uma unidade, respondendo de forma quadrática e linear negativa respectivamente com o acréscimo desse metal no solo (Figura 10 A). Plantas que apresentam fator de bioconcentração superior a uma unidade podem ser recomendadas para fitoextração de contaminantes (MCGRATH e ZHAO, 2003). Desta forma, o trigo apresenta baixo potencial de bioconcentrar cobre, sendo reduzido para solos com texturas superiores a 70 % de teor de argila, e com altas concentrações deste metal no solo. A mobilidade do cobre no solo e a capacidade de absorção pelas plantas está diretamente relacionado ao teor de argila no solo, sendo geralmente maior em solos arenosos (MEDINA et al., 2018).

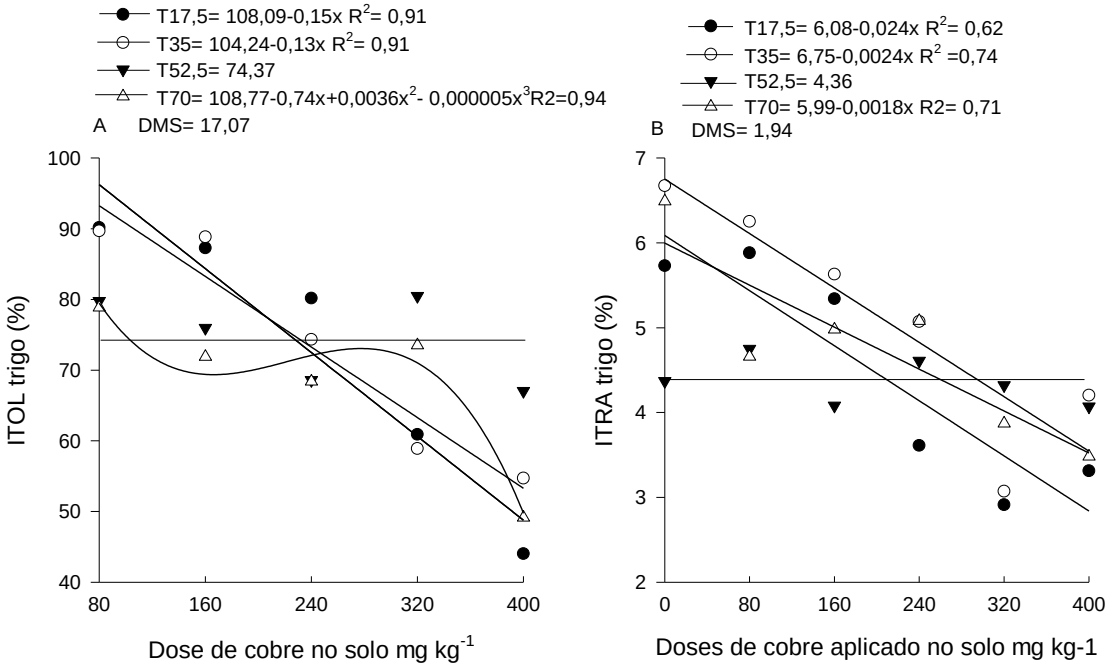
Figura 10: Fator de bioconcentração (A) e de bioacomulação (B) de cobre na cultura do trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70% de argila) e doses de cobre mg kg^{-1} no solo.



O fator de bioacumulação apresentou interação significativa entre as doses e texturas, sendo que em todos os tratamentos os valores se mantiveram inferiores a uma unidade (Figura 10 B). A maior bioacumulação de cobre pelo trigo foi nos tratamentos de solo com texturas mais arenosas, decorrente da maior disponibilidade deste metal para as plantas quando comparado com texturas mais argilosas (52,5 e 70%). Em solos argilosos, o cobre fica fortemente retido, principalmente pela ligação específica com grupos OH octaedral em argilas silicatadas, muitas vezes ficando indisponível para as plantas (MEDINA et al., 2018; MAMEDES, 2017; MATOS; FORTES; MARTINEZ, 1998). Considerando que o fator de bioacumulação varia de 0,1 a 1 para cobre (WISE et al., 2000; FUKSOVA; SZAKOVA; TLUSTOS, 2009), os resultados encontrados indicam baixa capacidade de translocação de cobre para a parte aérea do trigo.

Houve interação significativa entre as doses de cobre e as texturas de solo para o índice de tolerância (ITOL) (Figura 11 A) e para o índice de translocação (ITRA) (Figura 11 B). O ITOL respondeu de forma cúbica, com ponto de máxima em torno de 280 mg kg^{-1} de cobre no solo com textura 70% de argila, de forma linear negativa para os solos com texturas mais arenosas (17,5 e 35% de argila) e sem ajuste para textura 52,5%. Quando esse índice for superior a 60% tem-se alta tolerância das plantas aos contaminantes (LUX et al., 2004). Desse modo, observa-se que para a cultura do trigo, solos mais argilosos conferem maior índice de tolerância às doses deste metal no solo, já para texturas mais arenosas (17,5 e 35% de argila) a tolerância do trigo é reduzida com o aumento na dose de cobre aplicada no solo.

Figura 11: Índice de tolerância (ITOL) (A) e Índice de translocação (ITRA) (B) de cobre na cultura do trigo cultivado em diferentes texturas (17,5%, 35%, 52,5%, 70% de argila) e doses de cobre mg kg^{-1} no solo.



O índice de translocação (ITRA) da cultura do trigo evidenciou que as texturas 17,5, 35 e 70 % de argila apresentaram redução linear para o ITRA com o aumento na dose de cobre no solo, enquanto para o solo com 52,5 % de argila, nenhum modelo de equação foi significativo (Figura 11 B). Segundo a literatura, quanto mais baixo ou próximo a zero o índice de translocação, maior é a probabilidade de sobrevivência e crescimento da espécie em ambientes contaminados (BRANZINI; GONZÁLEZ; ZUBILLAGA, 2012; SCHEID et al., 2018). O ITRA inferior a 7% para o trigo, vem de acordo com o encontrado por SILVA et al., (2007), onde os autores encontraram índices variando entre 5,8 e 7,7% em arroz, considerados baixos para culturas agrícolas. O cobre é um elemento que não fica prontamente móvel na planta por permanecer ligado fortemente as raízes (KABATA-PENDIAS, 2011). Porém sua mobilidade dentro da planta pode aumentar com a disponibilidade desse elemento, teor de argila, matéria orgânica e pH no solo (CHAVES et al., 2010), no trigo a translocação do metal foi reduzida com o aumento na dose de cobre. O acúmulo de cobre pode não ser influenciado pela contaminação do solo, sendo que existe uma relação de antagonismo na absorção de metais com outros elementos (ALLOWAY, 1995).

3.6 CONCLUSÃO

A parte aérea e o sistema radicular do trigo são reduzidos em altas concentrações de cobre no solo.

Solos arenosos favorecem a translocação de cobre para o grão de trigo em áreas contaminadas com este metal, enquanto que solos argilosos reduzem a translocação de cobre para o grão de trigo possibilitando o cultivo deste cereal em áreas com teores mais elevados de Cu nos solos sem atingir o limite máximo deste elemento no grão, conforme preconizado pela legislação brasileira.

Solos mais argilosos reduzem a bioconcentração e bioacumulação de cobre na cultura do trigo quando comparado a solos mais arenosos.

Solos argilosos conferem maior índice de tolerância de cobre para o trigo em comparação com solos arenosos.

3.7 REFERÊNCIAS

ABIA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS). **Compêndio da legislação dos alimentos**. São Paulo, 1985.

ALLEONI, L. R. F.; BORBA, R. R.; CAMARGO, O. A. **Metais pesados: da Cosmogênese aos solos brasileiros**. In: VIDAL-TORRADO, P. et el (Eds). Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v. 4, p. 1-42. 2005.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metals in soils**. 2nded. New York: Blackie Academic & Professional, 1995. 368p.

ANVISA. **Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/decretos/55871_65.htm>. Acesso em: 10 novembro. 2020.

BAKER, A. J. M et al. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects, v. 2, p. 155-165, 1990

BODMAN, G. B.; CONSTANTIN, G. K. Influence of particle sizes distribution in soil compaction. **Hilgaria**, v.36, p.567-91, 1966.

BOLAN, N. S.; DURAISAMY, V. P. Role of inorganic and organic soil amendments on immobilisation and phytoavailability of heavy metals: a review involving specific case studies. **Australian Journal of Soil Research**, Sydney, v.41, p.533-555, 2003.

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.

BRAVIN, M. N. et al. Copper uptake kinetics in hydroponically-grown durum wheat (Triticum turgidum durum L.) as compared with soil's ability to supply copper. **Plant and soil**, v. 331, n. 1-2, p. 91-104, 2010.

CERETTA, C. A. et al. Produção e decomposição de fitomassa de plantas invernais de cobertura de solo e milho, sob diferentes manejos da adubação nitrogenada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, p.49-54, 2002.

CHANEY, R. L.; OLIVER, D. P. Sources, potential adverse effects and remediation of agriculture soil contaminants. In: NAIDU, R. (Ed.). **Contaminants and the soil environment in the Australasia-Pacific region**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. p.323-359.

CHAVES, L. H. G. et al. Crescimento, distribuição e acúmulo de cobre e zinco em plantas de pinhão-manso. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 167-176, 2010.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** SBCS – NRS, f 376, 2016.

CONAMA. **Resolução n° 420. de 28 de dezembro de 2009**. Acesso em:10 fevereiro de 2019.

CONTI, L. **Plantas de cobertura do solo e videiras: toxidez, fitorremediação e mecanismos de tolerância ao excesso de cobre**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

CRUSCIOL, C. A. C. et al. Taxas de decomposição e de liberação de macronutrientes da palhada de aveia preta em plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.2, p.481-489, 2008.

DOS SANTOS, H. P. et al. Comportamento fisiológico de plantas de aveia (Avena strigosa) em solos com excesso de cobre. Embrapa Uva e Vinho. **Comunicado Técnico**, 2004.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n. 6, p. 1039-1042, 2011

FUKSOVÁ, Z.; SZÁKOVÁ, J.; TLUSTOŠ, P. Effects of co-cropping on bioaccumulation of trace elements in Thlaspi caerulescens and Salix dasyclados. **Plant, Soil and Environment**, v. 55, n. 11, p. 461-467, 2009.

GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource technology**, v. 77, n. 3, p. 229-236, 2001.

GIROTTO, E. et al. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas cultivadas em solos com acúmulo de cobre e zinco**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

GONÇALVES, G. K. et al. Respostas de mudas de videiras a adubação com cobre em solos de santana do livramento-RS/Responses of grapevine seedlings to copper fertilization in the soil of Santana do Livramento-RS. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 26378-26387, 2019.

GRIEBELER, J. S. **Panorama brasileiro e europeu sobre os dados referentes a usos, contaminação, programas e políticas de manejo do solo**. Tese de Doutorado. Universidade de Passo fundo.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace Elements in Soils and Plants**. CRC Press, Taylor and Francis Group. 2011.

LOCATELLI, J. L. et al. Uso de dejeto líquido de suínos permite reduzir a adubação mineral na cultura do milho? **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 3, p. 628-637, 2019.

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, 2004.

MAMEDES, I. M. Influência da disposição inadequada de resíduos sólidos urbanos sobre o solo: Estudo de caso do lixão de Várzea Grande-MT. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 5, n. 2, p. 327-336, 2016.

MANTOVANI, E. C. **Compactação do solo**. Informação Agropecuária, v.13, 147p, 1987.

MARSCHNER, H. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. Academic press, 2011.

MARQUES, D. M. et al. Crescimento e respostas fisiológicas das espécies arbóreas Hymenaea courbaril L., Peltophorum dubium (Spreng.) Taub. e Myroxylon peruiferum lf expostas a diferentes concentrações de cobre no solo. **Revista Árvore**, v. 42, n. 2, 2018.

MARTINS, A. L. C.; BATAGLIA, O. C.; CAMARGO, O. A.; CANTARELLA, H. Produção de grãos e absorção de Cu, Fe, Mn e Zn pelo milho em solo adubado com lodo de esgoto, com e sem calcário. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.563-574, 2003.

MATEOS-NARANJO, E. et al. Assessing the effect of copper on growth, copper accumulation and physiological responses of grazing species Atriplex halimus: ecotoxicological implications. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 90, p. 136-142, 2013.

MATOS, A. T. et al. Correlação entre os fatores de retardamento e coeficientes de dispersão-difusão do zinco, cádmio, cobre e chumbo, e algumas propriedades físicas dos solos. **Engenharia na Agricultura**, v. 6, n. 4, p. 235-246, 1998.

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, 2003.

MEDINA, E. F. et al. Seleção de solos da região de viçosa para utilização como barreira química para metais pesados. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 4, n. 3, p. 0349-0352, 2018.

MELO, A.V. et al. Extração de nutrientes e produção de biomassa de aveia-preta cultivada em solo submetido a dezoito anos adubação orgânica e mineral. **Semina**, Londrina, v.32, n.2, p.411-420, 2011.

MICHAUD, A. M.; CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (Triticum turgidum durum L.). **Plant and soil**, v. 310, n. 1-2, p. 151-165, 2008.

MICHAUD, A. M. et al. Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (Triticum turgidum durum L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. **Plant and Soil**, v. 298, n. 1, p. 99-111, 2008.

MIYAZAWA, M. et al. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Org.). **Man. Análises químicas solos, plantas e fertilidade.** 2. Ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2009. P. 193-233.

MORAES, M. T.; ARNUTI, F.; SILVA, V. R.; SILVA, R. F.; BASSO, C. J. & DA ROS, C. O. Dejetos líquidos de suínos como alternativa a adubação mineral na cultura do milho. **Semina,** vol. 35, n. 6, p. 2945-2954, 2014.

NASCIMENTO, A. R. V. J. do; NASCIMENTO, C. W. A. do; CUNHA, K. P. V. da. Solos de minas de scheelita como fontes de contaminação por metais pesados. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, n. AHEAD, 2020.

PANISON, F.; SANGOI, L.; DURLI, M. M.; LEOLATO, L. S.; COELHO, A. E.; KUNESKI, H. F. & LIZ, V. O. Timing and splitting of nitrogen side-dress fertilization of early corn hybrids for high grain yield. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, vol. 43, art. 338, 2019.

PANZIERA, A. G. et al. Potencial de fitoextração de cobre por aveia preta em área de vinhedos no Sul do Brasil. **Revista Engenharia na Agricultura-Reveng**, v. 26, n. 6, p. 565-573, 2018.

PÉREZ, D. V. et al. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2013.

PINTO, M. A. B.; FABBRIS, C.; BASSO, C. J.; SANTI, A. L. & GIROTTO, E. Aplicação de dejeto líquido de suínos e manejo do solo na sucessão aveia/milho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, vol. 44, n. 2, p. 205-212, 2014.

POPPER, L.; SCHÄFER, W.; FREUND, W. (Ed.). **Future of flour: A compendium of flour improvement**. AgriMedia, 2006. 325p.

RANGEL, O. J. P.; SILVA, C. A.; BETTIOL, W.; DYNIA, J. F. Efeitos de aplicações de lodos de esgoto sobre os teores de metais pesados em folhas e grãos de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, p.583-594, 2006.

RIBEIRO, R. H.; BESEN, M. R.; FIOREZE, S. L. & PIVA, J. T. Management of nitrogen fertilization in maize cultivated in succession to black oats in a temperate climate. **Comunicata Scientiae**, vol. 9, n. 2, p. 202-210, 2018.

ROCHA, K. F.; CASSOL, L. C.; PIVA, J. T.; ARRUDA, J. H.; MINATO, E. A. & FAVERSANI, J. C. Épocas de aplicação de nitrogênio na cultura do milho num latossolo vermelho muito argiloso sob plantio direto. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, vol. 13, p. 273-284, 2014.

SANTANA, N. A. et al. **Fitorremediação do cobre em vinhedos: efeito do fungo micorrízico arbuscular, minhocas e vermicomposto**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria.

SANTOS, H. P. et al. Comportamento fisiológico de plantas de aveia (Avena strigosa) em solos com excesso de cobre. Embrapa Uva e Vinho. **Comunicado Técnico**, 2004.

SCHEID, D. L. et al. Turfa como indutor do crescimento e tolerância de Erythrina crista-galli em solo contaminado com zinco. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 4, p. 51-60, 2018.

SILVA, M. L de S.; VITTI, G. C.; TREVIZAM, A. R. Concentration of heavy metals in grain of plants cultivated in soil with different contamination levels. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 2007.

SILVEIRA, M. L. A. et al. Copper adsorption in oxidic soils after removal of organic matter and iron oxides. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 33, n. 19-20, p. 3581-3592, 2002.

TAYLOR, G. J.; FOY, C. D. Differential uptake and toxicity of ionic and chelated copper in Triticum aestivum. **Canadian Journal of Botany**, v. 63, n. 7, p. 1271-1275, 1985.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

VENDRUSCOLO, D. **Seleção de plantas para fitorremediação de solo contaminado com cobre**. 2013.

WISE, Donald L. **Remediation engineering of contaminated soils**. CRC Press, 2000.

ZORTÉA, T. et al. Toxicidade do cobre em função da correção do pH em dois solos naturais: Uma abordagem com plantas e organismos edáficos. **Scientia agraria**, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2016.

4 CAPÍTULO 2: FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES PARA A CULTURA DO TRIGO EM DIFERENTES DOSES DE COBRE NO SOLO

4.1 RESUMO

Em elevadas concentrações no solo o cobre é tóxico para o desenvolvimento dos vegetais. Simbioses realizadas entre microrganismos e espécies vegetais são uma alternativa para minimizar a toxidez das plantas em solo contaminado com cobre. Objetivou-se selecionar espécies de fungos micorrízicos arbusculares para o desenvolvimento de plantas de trigo em solo contaminado com cobre. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo bifatorial 4 x 6, sendo quatro fonte de inóculos: 3 espécies de micorrizas arbusculares (*Acaulospora colombiana*,*Gigaspora margarita*, e *Rhizophagus clarus*), e sem inóculo (testemunha) e e seis doses de cobre no solo (0 (zero = teor natural do solo), 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1}), com 7 repetições. Avaliou-se a altura de plantas, comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca de raiz, área superficial específica, diâmetro médio de raiz, teor de cobre na raiz, parte aérea e grão e porcentagem de colonização micorrízica. A parte aérea, o sistema radicular e a colonização micorrízica do trigo são reduzidos em altas doses de cobre no solo. O fungo micorrízico *Acaulospora colombiana* possibilita maior produtividade do trigo. No entanto, os isolados micorrízicos Acaulospora colombiana e Gigaspora margarita quando comparados com o Rizophagus clarus e a testemunha sem inoculação proporcionam maior altura de planta, comprimento de raiz e área superficial específica na cultura do trigo. Os fungos micorrízicos possibilitam maior teor de cobre nas raízes e consequentemente menor mobilização desse metal para a parte aérea e grãos do trigo.

Palavras-chave: Trigo. Micorrizas Arbusculares. Metal pesado.

4.2 ABSTRACT

In high concentrations in the soil copper is toxic for the development of plants. Symbiosis carried out between microorganisms and plant species is an alternative to minimize the toxicity of plants in soil contaminated with copper. The work aimed to select species of arbuscular mycorrhizal fungi for the development of wheat plants in soil contaminated with copper. The experimental design was completely randomized in a 4 x 6 bifactorial arrangement, with four sources of inocula: 3 species of arbuscular mycorrhizae (Acaulospora colombiana, Gigaspora margarita, and Rhizophagus clarus), and without inoculum (control) and six doses of copper in the soil (0 (zero = natural soil content), 80, 160, 240, 320, 400 mg kg-1), with 7 repetitions. Plant height, root length, root volume, shoot dry matter, dry root weight, total dry matter, specific surface area, average root diameter, copper content in the root, shoot and grain were evaluated and percentage of mycorrhizal colonization. The aerial part, the root system and the mycorrhizal colonization of wheat are reduced by high doses of copper in the soil. The mycorrhizal fungus Acaulospora colombiana enables greater wheat yield. However, the isolates Acaulospora Colombiana and Gigaspora Margarita when compared with Rizophagus Clarus and the witness provide greater height, root length and specific surface area and lower copper content in the grain in wheat. Mycorrhizal fungi allow a higher content of

copper in the roots and consequently less mobilization of this metal to the aerial part and grains of wheat.

Key-words: Wheat. Arbuscular Mycorrhizae. Heavy metal.

4.3 INTRODUÇÃO

O trigo é um dos cereais mais produzidos no mundo (BELTRANO et al., 2006), seu consumo é a base da alimentação de vários países e uma das principais matérias-primas brasileiras, com elevado valor financeiro envolvido no seu cultivo e nos produtos industriais fabricados a base desse grão. Destaca-se não apenas pelas suas características tecnológicas, mas também pela inserção e valorização dos sistemas de produção regionais, agregando assim renda as propriedades agrícolas, abastecimento do mercado interno e no papel de produtos relevantes nas transações comerciais brasileiras com outros países (MADEIRA, 2014).

O cobre é um micronutriente indispensável para os organismos vivos, esse elemento desempenha vários processos fisiológicos tais como a respiração, fotossíntese e na fixação de nitrogênio (FEKIACOVA et al., 2015; RUSCINITTI et al., 2017). Contudo, quando presente em concentrações acima do recomendado, pode causar em animais e humanos, inativação enzimática, doenças hepáticas, dores musculares, alterações nervosas, vômitos e em casos de superexposição, a morte (MAHER, 2018). A Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) na portaria n° 85/2014, estabeleceu que o valor de referência e qualidade (VQR) em áreas agrícolas para cobre total em solos oriundos de rochas vulcânicas do planalto do estado do Rio Grande do Sul é de 203 mg/kg^{-1} (FEPAM, 2014).

Dentre as principais fontes antropogênicas de emissão deste metal para o ambiente, destacam-se a mineração, queima de carvão para fonte de energia, emissão de resíduos industriais e urbanos, aditivos na alimentação animal, uso descontrolado de dejetos animais na adubação e uso desenfreado de agroquímicos na agricultura (CETESB, 2012; ANDREAZZA et al., 2013; ANDRADE et al., 2010). Isso tem resultado em superacumulação de cobre no solo, causando diversas alterações morfológicas e fisiológicas nos vegetais (FERREIRA et al., 2016).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) estabelecem relação simbiótica mutualística com cerca de 80% das espécies de plantas (SMITH e READ, 2008), sendo capazes de contribuir para o seu desenvolvimento, produtividade, proteção a estresses

ambientais e patógenos, reduzindo a utilização de fertilizantes minerais e defensivos, devido a ação de proteção e do acúmulo de compostos bioativos e de crescimento para os vegetais, bem como a melhoria das propriedades físico-químicas do solo ou substrato (PASZT et al., 2011; MATSUBARA; ISHIGAKI; KOSHIKAWA, 2009). Esses fungos atuam na proteção de plantas frente ao estresse provocado pelas altas concentrações de metais no solo, sendo resultado de diversos fatores, como o acúmulo do metal em órgãos não vitais, manutenção na integridade das membranas celulares, retenção do metal no micélio fúngico ou na parede celular (RUSCITTI et al., 2017).

Vários estudos foram realizados com fungos micorrízicos arbusculares (SILVA et al., 2006; CASTILLO et al., 2011; HASSAN et al., 2013), levando a controversas da especificidade tanto da espécie de FMAs quanto do hospedeiro, e da associação simbiótica em ambientes com excesso de metais pesados no solo (KLAUBERG-FILHO et al., 2005; SANTANA et al., 2015; FERREIRA et al., 2016). Assim, faz-se necessária a seleção de espécies de FMAs eficientes em promover o crescimento e produção de trigo, maximizando os efeitos positivos dessa associação. Objetivou-se selecionar espécies de fungos micorrízicos arbusculares para o desenvolvimento de plantas de trigo em solo contaminado com cobre.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus de Frederico Westphalen, entre os meses de junho e novembro de 2020. O solo utilizado no experimento foi caracterizado como Latossolo Vermelho, coletado em área agrícola na camada de 0 – 20 cm, sendo esterilizado em autoclave à pressão de 1 atm (121 °C) por 30 minutos, processo repetido por três vezes. Foi realizada a caracterização química do solo, cujos atributos químicos e físicos estão especificados na Tabela 1, conforme metodologia descrita por Mann e Ritchie (1993) para o cobre trocável e por Tedesco et al., (1995) para os demais atributos.

Tabela 1: Textura e análise química do solo utilizado para o cultivo do trigo.

----------Parâmetros----------								
Textura	pH	MO	P	K	Mg	Al+H	Cu	Zn
%	1:1	%	----------mg/dm^3----------					
52,5	5,2	0,9	0,85	24,97	1,92	1,85	8,1	0,59

Por meio da interpretação da análise do solo foi realizado a correção do pH em água para 6.5 e adubação recomendada para a cultura do trigo de acordo com o Manual de Calagem e Adubação para os estados do RS e SC (2016) para espectativa de produdividade de 4 toneladas por ha. A contaminação do solo com as doses de cobre foi realizada 60 dias antes da semeadura do trigo, na forma de sulfato de cobre ($CuSO_4.5H_2O$), sendo homogeneizado com o solo por agitação em saco plástico.

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) foram oriundos da Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG) do Laboratório de Micorrizas da Universidade Regional de Blumenau – SC. A inoculação foi realizada no momento da semeadura do trigo, na qual foram adicionados 30 esporos de cada um dos isolados micorrízicos, por vaso.

A cultivar de Trigo utilizada foi a TBIO Sinuelo. Para o cultivo das plantas foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 5 litros, preenchidos com 5 Kg de solo. Foram semeadas 10 sementes por vaso, na primeira quinzena de junho e realizado o desbaste 15 dias após a germinação, deixando-se 4 plantas por vaso, as quais compuseram uma unidade experimental até o final do experimento, ou seja, até o final do ciclo produtivo da cultura. A irrigação foi controlada diariamente por sistema de gotejamento, de acordo com a necessidade da cultura, mantendo-se o solo em 80% da capacidade de campo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo bifatorial 4 x 6, sendo quatro fontes de inóculos: 3 espécies de micorrizas arbusculares (*Acaulospora colombiana,Gigaspora margarita* e *Rhizophagus clarus*), e sem inóculo (testemunha) e seis doses de cobre no solo (0 (zero = teor natural do solo), 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1}), com 7 repetições.

Determinou-se a produtividade expressa em gramas por 4 plantas. Para estimativa de produtividade os grãos foram colhidos, pesados, aferido a umidade e posteriormente corrigido esse peso para umidade de 13%, conforme equação (1).

$$\text{Peso corrigido para Ud\%} = \text{Peso úmido x } \left(\frac{100 - \text{Úmidade atual}}{100 - \text{Ud\%}} \right) \qquad (1)$$

Sendo, Ud = umidade desejada

Foram realizadas avaliações morfológicas de: altura de plantas (AP) em cm, com auxílio de régua graduada, medindo-se do solo até o final da espiga; volume de raiz (VR) com auxílio de proveta graduada; massa seca de raiz (MSR); realizando-se a separação da parte aérea e radicular na região do colo da planta, sendo a massa submetida a secagem em estufa a 61°C até peso contante. A massa seca total foi obtida pela soma da massa seca da parte aérea e de raiz.

Após a coleta das plantas, as raízes foram separadas por meio de lavagem com água e auxílio de peneiras de 0,5 e 1,0 mm de malha para determinação da área superficial específica (ASE) e o diâmetro médio de raiz (DMR) conforme Tennant (1975) por meio do programa computacional SAFIRA (JORGE; RODRIGUES, 2008).

As massas secas da parte aérea, raízes e grãos foram moídos em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 10 mesh para a determinação dos teores de cobre através de digestão nítro-perclórica (3:1) e determinação em espectrofometria de absorção atômica, conforme descrito por Miyazawa et al., (2009).

A porcentagem de colonização micorrízica (PC) baseou-se na coloração de raízes com Azul de Tripan 0,05% conforme descrito por Phillips e Hayman (1970), para visualização da colonização dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em estereomicroscópio com aumento de 60x (BRUNDRETT et al., 1996). A colonização foi estimada em 5 repetições por planta, totalizando 35 repetições por tratamento, pelo método da placa quadriculada (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980).

No solo a determinação do teor de cobre pseudo-total foi realizado conforme metodologia 3050b descrita por USEPA (1996) e para cobre disponível realizado com uma solução extratora Melhlich^{-1} a qual atua por dissolução ácida, diante dos ácidos sulfúrico e clorídrico (SOBRAL et al., 2013).

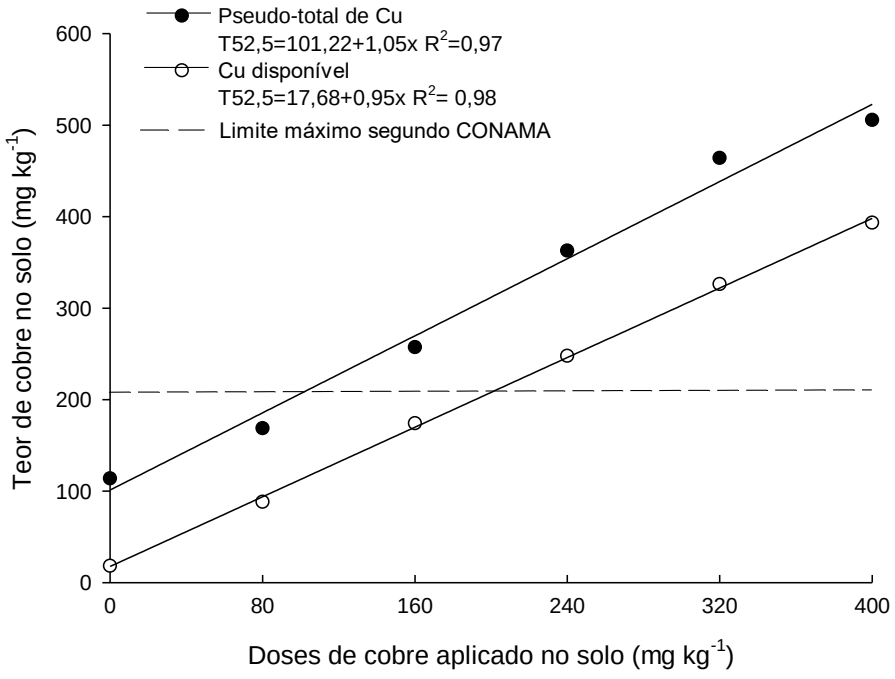
Os resultados foram submetidos a análises de variância e quando houve interação significativa, desdobrou-se os efeitos da dose em cada tratamento de inoculação por meio de análise de regressão e quando não significativo comparou-se as médias do fator qualitativo pelo teste de Scott knot e do fator quantitativo por regressão. Os resultados

foram analizados com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), considerando como referência os níveis de significância maiores que 95%.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cobre disponível e pseudo-total no solo aumentaram de forma linear com a aplicação do mesmo no solo (Figura 1). Nota-se que o pseudo-total na dose de 95 mg de cobre kg^{-1} de solo alcança os limites máximos de investigação permitidos pela resolução n° 420, que é de 200 mg kg^{-1} de solo (CONAMA, 2009). Os Latossolos apresentam elevados teores totais de metais devido ao material de origem, porém estão predominantemente presentes em formas óxidas não disponíveis, muitas vezes apresentando deficiência para as plantas (SECCO et al., 2005).

Figura 1: Cobre disponível e pseudo-total em solo cultivado com trigo e doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg de cobre kg^{-1} de solo).



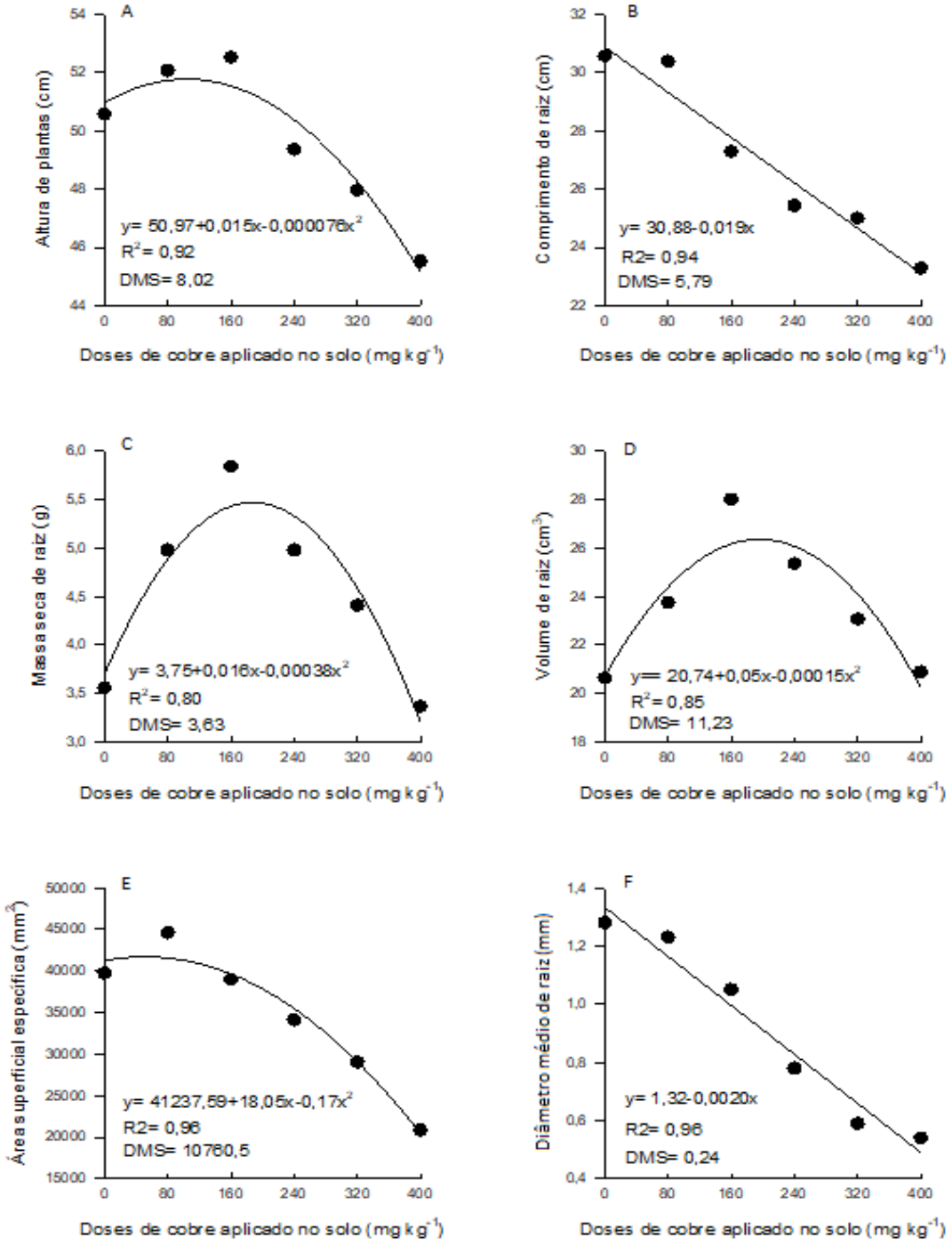
O cobre disponível na dose zero apresentou teor de 8,1mg de cobre kg^{-1} de solo (Figura 1). As diferenças nos teores de cobre disponível e pseudo-total apresentados na Figura 1 se devem aos mecanismos de adsorção, sendo eles, a adsorção não específica

(esfera externa) que ocorre através da ação de forças eletrostáticas entre cátions metálicos presentes na solução do solo e a superfície carregada com cargas negativas dos colóides. Já a adsorção específica (esfera interna) se deve a elevada afinidade entre a superfície e os cátions livres em solução, na qual os íons penetram na estrutura do átomo e ligam-se por meio de ligações covalentes ou iônicas com os grupos O^- e OH da superfície do solo (VINHAL-FREITAS et al., 2010; ARAUJO, 2015).

Os resultados não evidenciaram interação significativa para a altura de planta, comprimento, massa seca, volume, área superficial específica e diâmetro médio de raízes de trigo, verificando apenas efeito simples para doses de cobre e espécies de Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMAs) (Figuras 2 e 3).

As doses de cobre induziram efeito quadrático positivo na altura das plantas de trigo com ponto de máxima na dose 98,68 mg kg^{-1} de cobre no solo com 51,71 cm (Figura 2 A). De forma geral, a altura do trigo é reduzida com o aumento na dose de cobre no solo, sobretudo em doses superiores ao ponto de máxima, onde fica evidente a redução drástica na altura, evidenciando o potencial de fitotoxidez por cobre. A diminuição do crescimento de plantas em função de sua exposição a altos níveis de cobre no solo é relatada na literatura (ZORTÉA et al., 2016; ALBARELO et al., 2014; DE SOUZA; FRANÇA; FERREIRA, 2011).

Figura 2: Efeito simples significativo de doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1} de solo) para altura de planta, comprimento, massa seca, volume, área superficial específica e diâmetro médio de raiz de plantas de trigo.



O aumento das doses de cobre levou a redução linear no comprimento de raiz, sendo 23% menor quando comparado a dose 400 mg de cobre kg^{-1} no solo com a dose zero (Figura 2 B). Várias pesquisas relatam que quando em altas concentrações, o cobre causa efeito tóxico reduzindo o desenvolvimento do sistema radicular dos vegetais (DECHEN e NACHTIGALL, 2006; CASALI et al., 2008; MIOTO et al., 2017). Um dos principais elementos que afeta a capacidade produtiva das plantas está associado ao

sistema radicular, após a germinação das sementes, as raízes desempenham papel fundamental no estabelecimento das culturas no campo, pois são responsáveis pela sustentação da planta, eficiência de absorção de água e nutrientes, dentre eles o fósforo que apresenta baixa mobilidade no solo e sua absorção é diretamente relacionada ao maior comprimento radicular (BERGOUGH-GLYN et al., 2006; REINERT et al., 2008; PIMENTEL et al., 2016).

As doses de cobre aumentaram de forma quadrática a massa seca e volume de raiz de trigo, obtendo como ponto de máxima 5,84 gramas na dose 166 mg kg^{-1} (Figura 2 C) e 26 cm^3 na dose 210 mg kg^{-1} (Figura 2 D) de cobre no solo, respectivamente. Pequenas doses de cobre no solo podem aumentar o número de raízes secundárias e a massa seca do sistema radicular, entretanto, em altas doses o volume e a massa seca radicular são reduzidos devido ao efeito tóxico deste metal às raízes (ROSSI et al., 2008). Contudo, em elevada concentração no solo, o efeito tóxico do cobre para os vegetais é citado na literatura sobretudo como, ausência de formação de raízes, redução no crescimento e consequentemente, diminuição da massa seca, acarretando em redução na capacidade de absorção de água e nutrientes essenciais para o crescimento e desenvolvimento de plantas (MARTINS, 2014; TAIZ et al., 2017).

A área superficial específica (ASE) apresentou aumento quadrático para as doses de cobre com ponto de máxima em 53 mg kg^{-1} de cobre no solo (Figura 2 E), enquanto o diâmetro médio de raízes diminuiu de forma linear com o aumento da dose de cobre no solo (Figura 2 F). A ASE e o diâmetro médio do sistema radicular estão relacionadas à capacidade das plantas em absorver água e nutrientes do solo (BOUMA; NIELSEN; KOUTSTAAL, 2000), pois raízes finas apresentam maior capacidade de absorver nutrintes por difusão (GURGEL et al., 2020; NOVAIS et al., 2017). Desse modo, as doses de cobre no solo reduzem a área superficial específica de raízes de trigo e associado a redução do comprimento radicular, indicam redução e engrossamento no sistema radicular do trigo e consequentemente na capacidadede absorver água e nutrientes do solo.

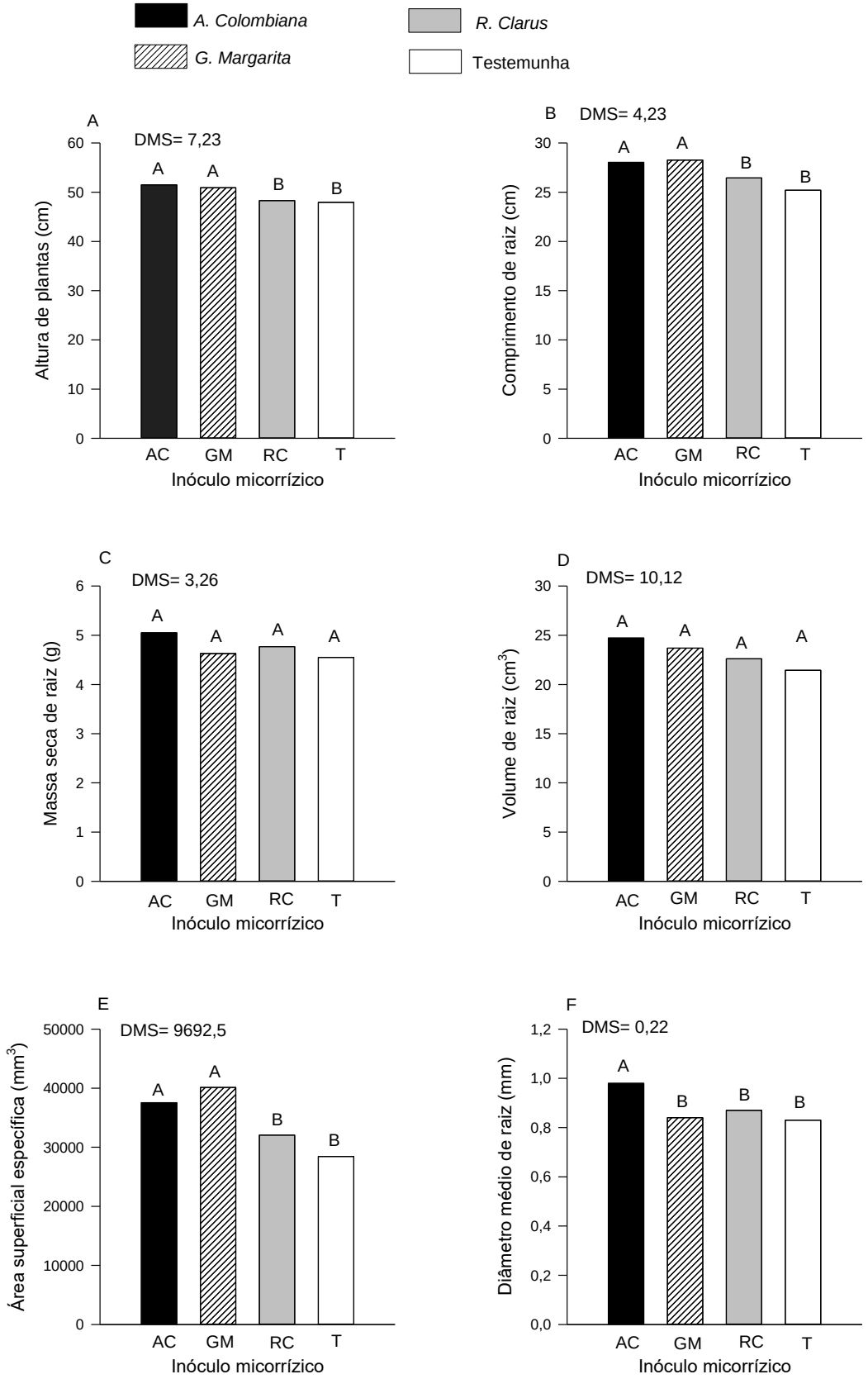
Os resultados evidenciaram efeito simples significativo do tratamento de inoculação para a altura, comprimento, área superficial específica e diâmetro médio de raiz de plantas de trigo (Figura 3). A maior altura de plantas foi observada nos tratamentos com as espécies de FMAs *Acaulospora colombiana* e *Gigaspora margarita*, sendo que a *Rizophagus clarus* não se diferenciou da Testemunha (Figura 3 A). A associação entre plantas e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) proporcionam aumento no

metabolismo, na fixação de carbono pelas espécies vegetais, maior altura de plantas e massa seca da parte aérea (OLIVEIRA et al., 2010; BRAGHIROLLI et al., 2012; SMITH e READ, 2008).

Os fungos micorrízicos arbusculares *G. Margarita* e *A. Colombiana* possibilitaram maior comprimento radicular das raízes de trigo (Figura 3 B). Isso ocorre, pois, os FMAs penetram suas hifas nas raízes passando a funcionar como um sistema radicular adicional, aumentando a área radicular e consequentemente aumentando a capacidade de absorção de nutrientes (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006; KUMAR et al., 2015). Desse modo, o trigo é beneficiado pelas associações micorrízicas em função do aumento do volume explorado pelo sistema radicular (STOPPER et al., 1990).

O inóculo com as três espécies de Fungos Micorrízicos Arbusculares apresentaram médias superiores a testemunha para as variáveis massa seca e volume de raiz, porém sem efeito significativo (Figura 3 C, 3 D). Trabalhando com a interação entre FMAs e bactérias diazotróficas em trigo, Sala et al., (2007) verificou que a inoculação isolada de *Glomus etunicatun* e *Acaulospora colombiana* não se diferenciaram dos tratamentos sem inoculação para a variável massa seca de raiz. Porém, avaliando a influência da micorriza no desenvolvimento do milho, Nunes et al., (2019) verificou que a inoculação de *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita* promoveram aumento na massa seca e volume de raiz quando comparadas a testemunha sem inoculação.

Figura 3: Efeito simples significativo de inóculo micorrízico (*A. colombiana, G. margarita, R. clarus* e testemunha, sem inóculo), na altura de planta, comprimento, massa seca, volume, área superficial específica e diâmetro médio de raiz de plantas de trigo.



Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra maiúscula entre os inóculos micorrízicos, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

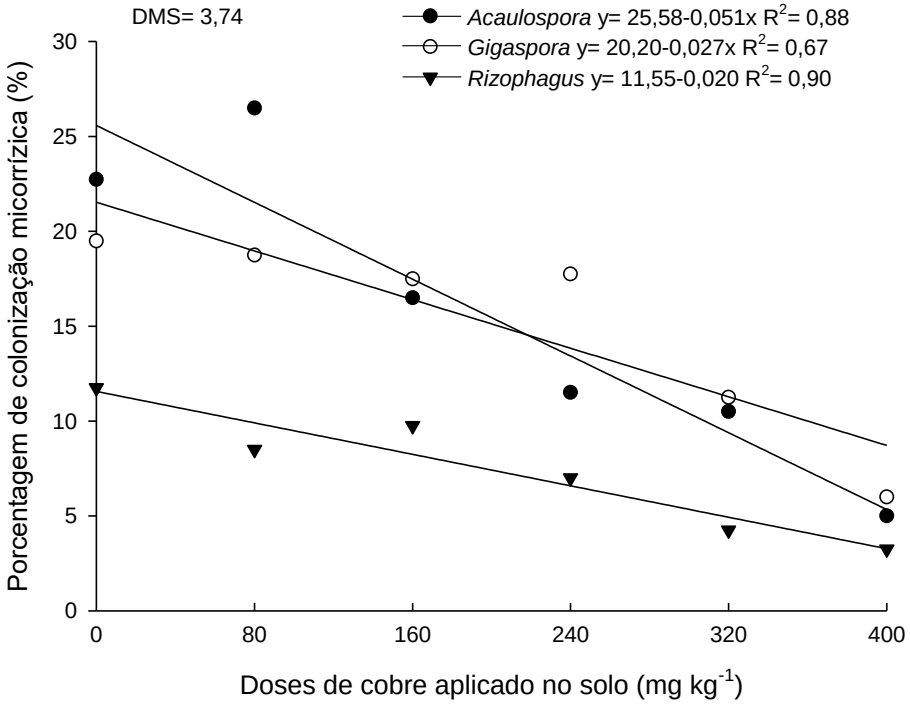
O diâmetro médio de raízes foi superior para a *A. colombiana*, sendo que os demais inóculos micorrízicos e a testemuna não se diferenciaram (Figura 3 F). A geometria radicular é uma característica importante para que ocorra a absorção dos nutrientes, sendo que estes devem estar na solução do solo e serem transportados ou se encontrarem na rota de crescimento da raiz (ROSOLEM et al., 2003). Raízes mais finas apresentam geometria mais favorável para absorção de nutrientes por difusão (BARBER, 1995), enquanto raízes mais grossas favorecem o transporte por fluxo de massa (ROSOLEM et al., 2003). Dentre os benefícios gerados pela associação entre plantas e fungos micorrízicos pode-se destacar a extensão do sistema radicular e maior área superficial específica acarretando uma maior absorção de água e nutrientes pelas plantas (VANDRESEN et al., 2007; COSTA et al., 2019).

O maior valor de área superficial específica do trigo foi obtido com a espécie *G. margarita*, a qual não se diferiu da *A. colombiana*, sendo superior ao tratamento sem inoculação (Figura 3 E). A simbiose estabelecida entre as micorrizas arbusculares e as espécies vegetais são de grande importância, visto que, através de suas hífas extraradiculares promovem o alongamento das raízes, elevando a área de contato no solo, podendo aumentar a área superficial específica em até 40x (GIOVANNETTI et al., 2001). Desse modo, vários benefícios são citados na literatura pela simbiose das plantas com FMAs, como aumento da absorção de água e nutrientes de baixa mobilidade no solo, resistência a estresses bióticos e abióticos (SILVEIRA et al., 2002; SCHIREINER, 2007; NUNES et al., 2008).

Os resultados demostraram interação significativa entre inóculos e doses de cobre aplicado no solo para o percentual de colonização micorrízica, verificando-se redução linear para os três isolados com o aumento na dose de cobre no solo (Figura 4). O isolado *A. colombiana* apresentou maior potencial de colonização de raízes de trigo em baixas concentrações de cobre no solo, entretanto com o aumento na dose desse metal no solo, próximo a dose 240 mg kg^{-1}, nota- se que a *G. margarita*, apresenta-se superior aos demais isolados. Fungos micorrízicos dos gêneros *Glomus* e *Acaulospora* são mais abundantes nos solos agrícolas e mais eficientes na taxa de colonização das raízes dos vegetais (GRAHAM e ABBOTT, 2000). A porcentagem de colonização micorrízica está relacionada com a especificidade e afinidade do fungo com o hospedeiro, podendo causar diferença no efeito da colonização (MATSUBARA et al., 2009). Avaliando 10 diferentes isolados de FMAs em trigo, Graham e Abboutt (2000) classificaram os isolados A*caulospora* e *Gigaspora* como agressivos, com taxa de colonização entre 50 e 89%.

Trabalhando com a inoculação de FMAs e bactérias diazotróficas em trigo, Sala et al. (2007) verificaram que quando inoculado os isolados *Acaulospora* e *Glomus* de forma separada, os níveis de colonização chegaram a 38 e 39% respectivamente.

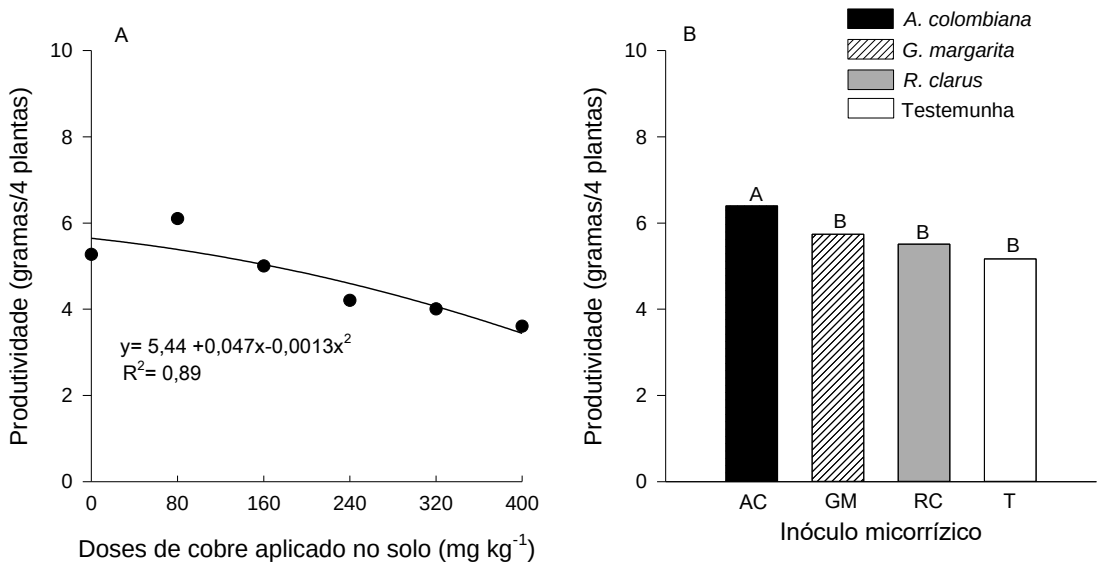
Figura 4: Porcentagem de colonização micorrízica em raízes de trigo cultivado em diferentes doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1} de solo), sem (Testemunha) e com inoculação de *Acaulospora colombiana, Gigaspora margarita* e *Rizophagus clarus.*



O acréscimo na dose de cobre aplicado no solo acarretou redução linear na taxa de colonização em todas as espécies de fungos micorrízicos em raízes de trigo, sendo que os isolados *A. colombiana, G. margarita* e *R. clarus* apresentaram reduções de 78, 70 e 72% na taxa de colonização quando correlacionado a dose 0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo, respectivamente. Altas concentrações de metais pesados reduzem a taxa de colonização micorrízica (ANDRADE et al., 2004). Avaliando a influência da micorriza no desenvolvimento da videira sob estresse de cobre, Rosa et al., (2019) verificaram que o aumento nas concentrações de cobre no solo reduziu em 70% a colonização pelos FMAs em função do efeito tóxico deste metal. O alto teor de cobre no solo pode reduzir drasticamente ou até inibir a colonização radicular por FMAs (AMBROSINI et al., 2015; ROSA et al., 2016).

Os resultados não evidenciaram interação significativa entre as doses de cobre e fontes de inóculo para a produtividade de plantas de trigo, apresentando apenas efeito simples significativo para as fontes de variação (Figura 5).

Figura 5: Efeito simples de doses de cobre (A) e dos inóculos micorrízicos (B) *A. colombiana, G. margarita, R. clarus* e testemunha (sem inóculo) na produtividade do trigo.



Fonte Autor (2021).

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula entre os inóculos micorrízicos, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

Quando comparados as doses de cobre aplicadas no solo, pode-se observar aumento de forma quadrática com ponto de máxima na dose de 18 mg de cobre kg^{-1} no solo (Figura 5A). O cobre é um elemento essencial para a cultura do trigo, sendo que sua deficiência causa esterilidade do pólen da espiga, acarretando em má formação e perdas de produtividade (BARKER; PILBEAM, 2015). No entanto, altas doses de cobre no solo reduzem o desenvolvimento de plantas, implicando em diminuição da capacidade produtiva devido aos danos causados pelos metais no aparelho fotossintético, interferindo na biossíntese de clorofilas e na atividade de enzimas do ciclo de Calvin e do aparelho fotossintético (DELGADO et al., 2016; PANZIEIRA et al., 2018). Esse resultado evidencia a importância de pequenas doses desse metal para maximizar o potencial

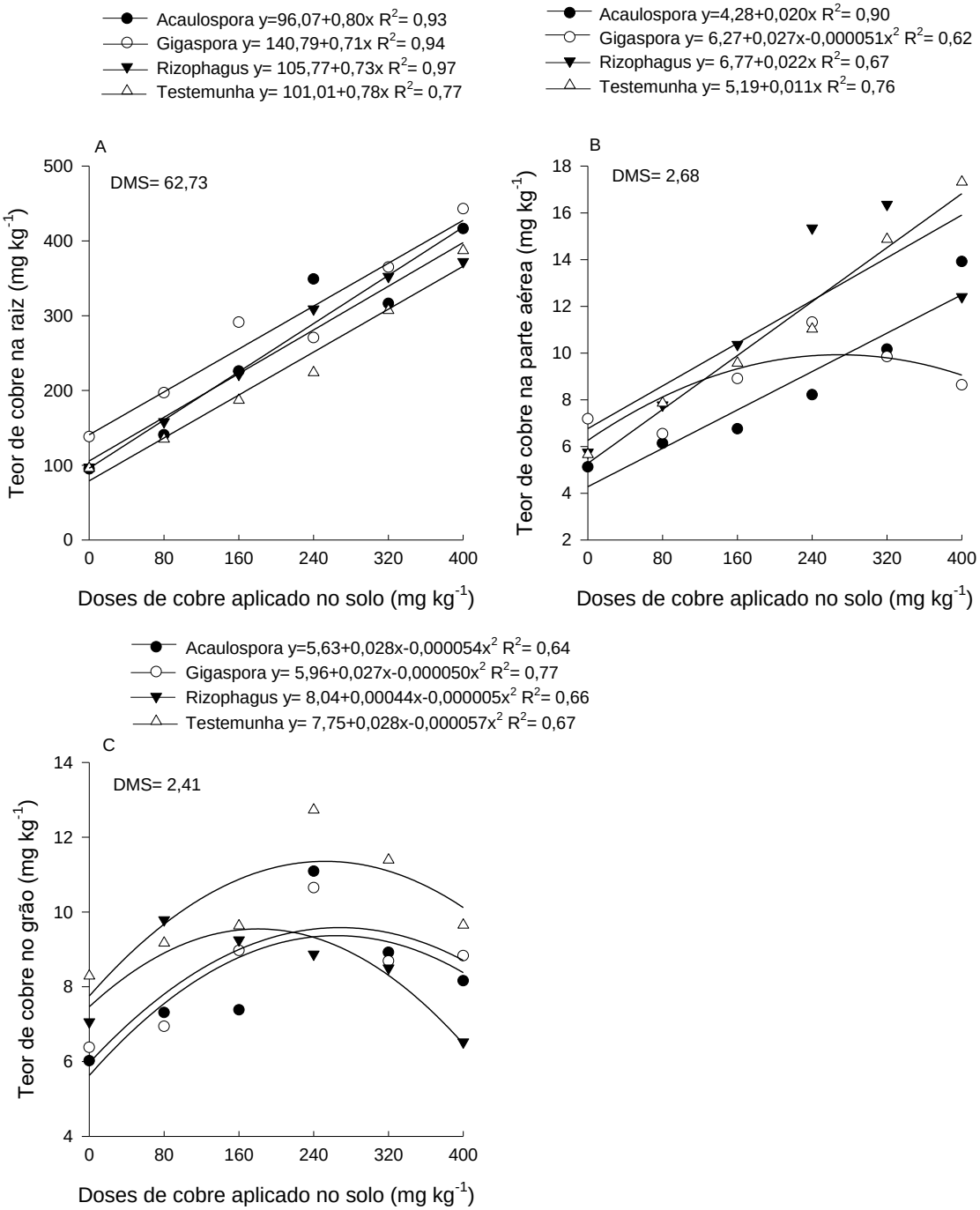
produtivo da cultura, porém a partir do ponto de máxima, destaca-se o efeito tóxico deste metal, reduzindo a produtividade do trigo.

Ao comparar as fontes de inóculo o fungo *A. colombiana* possibilitou significativamente maior produtividade do trigo em relação aos demais tratamentos (Figura 5). Dentre os benefícios gerados pela associação entre plantas e fungos micorrízicos pode-se destacar a extensão do sistema radicular (Figura 3 B) maior área superficial específica (Figura 3 E) aumentando a absorção de água e nutrientes resultando em plantas mais vigorosas e produtivas (VANDRESEN et al., 2007; COSTA et al., 2019).

O teor de cobre na raiz, parte aérea e no grão de plantas de trigo evidenciaram interação significativa para as doses de cobre e inóculos micorrízicos (Figura 6). Nota-se aumento linear no teor de cobre na raiz para todas as fontes de inóculo testadas, com destaque para a espécie *G. margarita* com 443 mg kg^{-1} de cobre na raiz na dose 400 mg kg^{-1}, (Figura 6 A). Avaliando a fitodisponibilidade do cobre para a cultura do milho, SEIDEL et al., (2009) verificou que o aumento no teor de cobre no solo, acarreta maior acúmulo do metal nas raízes, com teores de 445,8 g kg^{-1} quando receberam 300 mg dm^{-3} de cobre. O aumento no teor de metais nas raízes e consequentemente o alívio do estresse das plantas em elevadas concentrações destes elementos, quando inoculadas com fungos micorrízicos, é relatado por (RIVEIRA-BECERRIL et al., 2002; SHEN et al.,2006). As raízes micorrizadas podem atuar como uma barreira, reduzindo a translocação e aumentando as concentrações dos metais nas mesmas. Este efeito é atribuído à adsorção dos metais nas paredes das hifas, uma vez que a quitina tem uma importante capacidade de ligação a esses elementos (JONER et al., 2000).

A concentração mais elevada de Cu no sistema radicular é consistente com resultados encontrados em estudos relacionando a baixa mobilidade do Cu para a parte aérea (RODRIGUES et al., 2018; DE MARCO et al., 2017). Desse modo, a imobilização de metais na biomassa fúngica e a imobilização na parede celular por carboidratos extracelulares é proposta como um mecanismo pelo qual esses fungos podem aumentar a tolerância das plantas aos metais pesados (LASAT, 2002).

Figura 6: Teor de cobre na raiz, parte aérea e grão de plantas de trigo cultivado em diferentes doses de cobre (0, 80, 160, 240, 320, 400 mg kg^{-1} de solo), sem (Testemunha) e com inoculação de *Acaulospora colombiana*, *Gigaspora margarita* e *Rizophagus clarus*.



De acordo com Silva et al. (2007) as raízes de plantas de arroz e soja limitam a translocação de Cu para outros tecidos das plantas, pois possuem mecanismos de tolerância ao excesso deste metal no solo, como a imobilização na parede celular, restrição na absorção, compartimentalização no vacúolo, formação de quelatos e fitoquelatinas, reduzindo a translocação de cobre para a parte aérea. A associação micorrízica pode aumentar a área de superfície de absorção das raízes, melhorando a absorção de íons de baixa mobilidade no solo, entre eles o cobre (ZHU et al., 2001; CHEN

et al., 2005; GONZÁLES-CHÁVES et al., 2004). Como o arroz e a soja, acredita-se que o trigo também possui mecanismos de tolerância e que estes evitam a translocação de cobre, observando-se os baixos teores encontrados na parte aérea e grão (Figura 6 B e C).

O teor de cobre na parte aérea aumentou de forma linear para o tratamento sem inoculação e com os isolados *R. clarus* e *A. colombiana*, enquanto *G. margarita* respondeu de forma quadrática, com ponto de máxima na dose 264 mg kg^{-1} de cobre no solo (Figura 6 B). Plantas associadas com fungos micorrízicos podem reter estes metais nas raízes e reduzir a translocação para a parte aérea. Isto envolve vários mecanismos, como efeitos diferenciados no crescimento da planta hospedeira e a produção, pelos FMAs, de glicoproteínas, denominadas glomalinas, que apresentam alta capacidade de reter metais (CHRISTIE et al., 2004).

As três espécies de fungos micorrízicos possibilitaram menor teor de cobre no grão quando comparadas com a testemunha em todas as doses de cobre estudadas (Figura 6 C). Os fungos micorrízicos atuam na proteção da toxidade de metais às plantas (SOARES e SIQUEIRA, 2008), pois possuem a capacidade de compartimentalizar o cobre nos esporos, reduzindo sua translocação para outros compartimentos das plantas (CORNEJO et al., 2013), produção de glomatina, pelas hifas dos fungos, substância eficiente na retenção e redução na translocação do contaminante (GONZÁLVES-CHÁVEZ et al., 2004), fitoestabilização e consequentemente imobilização dos metais na raiz (SANTOS et al., 2007).

De acordo com o decreto n° 272.688, de 27 de agosto de 1965 (ANVISA, 1965), o limite máximo de tolerância (LMT) em alimentos (matéria seca) para o Cu, é de 30 mg kg^{-1}, e, conforme a Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação (ABIA, 1985) o LMT para Cu, permitidos em grãos é de 30 mg kg^{-1}. Em todos os tratamentos, os níveis de cobre no grão de trigo ficaram abaixo dos limites máximos previstos pelas legislações, sendo que, o teor máximo de cobre no grão foi de 12,73 mg kg^{-1} na dose 240 mg kg^{-1} de cobre correspondendo ao tratamento sem inoculação.

4.6 CONCLUSÃO

A parte aérea, o sistema radicular e a colonização micorrízica do trigo são reduzidos em altas doses de cobre no solo.

O fungo micorrízico *Acaulospora colombiana* possibilita maior produtividade do trigo. No entanto, os isolados micorrízicos *Acaulospora colombiana* e *Gigaspora margarita* quando comparados com o *Rizophagus clarus* e a testemunha sem inoculação proporcionam maior altura de planta, comprimento de raiz e área superficial específica na cultura do trigo.

Os fungos micorrízicos possibilitam maior retenção de cobre nas raízes com menor mobilização desse metal para a parte aérea e grãos do trigo.

4.7 REFERÊNCIAS

ABIA - Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. **Compêndio da legislação dos alimentos**. São Paulo, 1985.

ALBARELLO, J. B. et al. O gesso agrícola pode mitigar a fitotoxicidade de cobre em plantas de videira jovem? In: **Embrapa Uva e Vinho-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2014.

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.

ANDRADE, S. A. L. et al. Influência da adição de chumbo em micorrizas arbusculares e *Rhizobium* simbioses sob plantas de soja. **Appl. Soil Ecol**. 26: 123-131, 2004.

ANVISA. **Decreto nº 22.688, de 27 de agosto de 1965**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/decretos/55871_65.htm>. Acesso em: 10 novembro. 2020.

ARAÚJO, H. A. S. **Estudo da adsorção de Pb, Zn e Cd por material inconsolidado transportado da região do Vale do Ribeira (SP)**. 81 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)–Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

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

BARBER, S. A. **Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach**. John Wiley & Sons, 1995.

BELTRANO, J.; RONCO, M. G.; ARANGO, M. C. Soil drying and rewatering applied at three grain developmental stages affect differentially growth and grain protein deposition in wheat (Triticum aestivum L.). **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 2, p. 341-350, 2006.

BENGOUGH-GLYN. A., BRANSBY, M. F., HANS, J., MCKENNA, S. J., ROBERTS, T. J. & VALENTINE, T. A. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. **Journal of Experimental Botany**, 57, 437- 447, 2006.

BOUMA, T. J.; NIELSEN, K. L.; KOUTSTAAL, B. A. S. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. **Plant and soil**, v. 218, n. 1-2, p. 185-196, 2000.

BRAGHIROLLI, F. L. et al. Fungos micorrízicos arbusculares na recuperação de florestas ciliares e fixação de carbono no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 36, n. 3, 733-744, 2012.

BRUNDRETT, M. et al. **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1996.

CASALI, C. A. et al. Formas e dessorção do cobre em solos com videira na Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n.4, pág. 1479-1487, 2008.

CASTILLO, O. S. et al. The effect of the symbiosis between Tagetes erecta L.(marigold) and Glomus intraradices in the uptake of copper (II) and its implications for phytoremediation. **New biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 156-164, 2011.

CHEN, X. et al. Arbuscular mycorrhizae enhance metal lead uptake and growth of host plants under a sand culture experiment. **Chemosphere**, v. 60, n. 5, p. 665-671, 2005.

CHRISTIE, P.; LI, X.; CHEN, B. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, v.261, p.209-217, 2004.

CETESB - Companhia de tecnologia de saneamento ambiental. **Divisão de toxicologia, genotoxicidade e microbiologia ambiental.** Ficha de informação toxicológica – Cobre. 2012.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** SBCS – NRS, f 376, 2016.

CONAMA. **Resolução n° 420. de 28 de dezembro de 2009**. Acesso em:10 fevereiro de 2019.

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.

COSTA, Samara Maria Lopes; MELLONI, Rogério. Relação de fungos micorrízicos arbusculares e rizobactérias no crescimento de mudas de oliveira (Olea europaea). **Ciência Florestal**, v. 29, n. 1, p. 169-180, 2019.

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

DE SOUZA, E. P.; DA SILVA, I. de F.; FERREIRA, L. E. Mecanismos de tolerância a estresses por metais pesados em plantas. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 17, n. 2, 2011.

FEKIACOVA, Z. S. et al. Rastreamento de fontes de contaminação em solos com razões isotópicas de Cu e Zn. **Ciência do Meio Ambiente Total**, v. 517, p. 96-105, 2015.

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, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, P. A. A. et al. Estratégias de amenização da fitotoxidez de metais pesados em solos de vinhedos. Embrapa Uva e Vinho-Capítulo em livro técnico (**INFOTECA-E**), 2016.

GIOVANNETTI, M. et al. The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. **New Phytologist**, v. 151, n. 3, p. 717-724, 2001.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. Na Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. **New Phytologist,** v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

GONZALEZ-CHAVEZ, M. C. et al. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental pollution**, v. 130, n. 3, p. 317-323, 2004.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, C. et al. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. **Plant and Soil**, v.240, p.287-297, 2002.

GRAHAM, J.H.; ABBOTT, L.K. Wheat responses to aggressive and non aggressive arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, v.220, p.207-218, 2000.

GURGEL, A. L. C., SANTANA, J. C. S., THEODORO, G. F., DIFANTE, G. S., ALMEIDA, E. M., ARCANJO, A. H. M., COSTA, C. M., COSTA, A. B. G. & FERNANDES, P. B. Compactação do solo: Efeitos na nutrição mineral e produtividade de plantas forrageiras. **Revista Científica Rural**, 22(1): 13-29, 2020.

HASSAN, S. E.; HIJRI, M.; ST-ARNAUD, M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on trace metal uptake by sunflower plants grown on cadmium contaminated soil. **New biotechnology**, v. 30, n. 6, p. 780-787, 2013.

JONER, E. J.; BRIONES, R.; LEYVAL, C. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. **Plant Soil**, v. 226: p. 227-234, 2000.

JORGE, L. A de C.; RODRIGUES, A. F de O. Safira: sistema de análise de fibras e raízes. **Embrapa Instrumentação-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E),** 2008.

KLAUBERG-FILHO, O. et al. Ecologia, função e potencial de aplicação de fungos micorrízicos arbusculares em condições de excesso de metais pesados. **Tópicos em ciência do solo**, v. 4, p. 85-144, 2005.

KUMAR, M. et al. Growth promoting characteristics of rhizobacteria and AM Fungi for biomass amelioration of Zea mays. **Archives of Biological Sciences**, Belgrado, v. 67, n. 3, p. 877-887, 2015.

LASAT, M. M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. **Journal of Environmental Quality**, v.31, p.109-120, 2002.

MADEIRA, R. A. V. **Caracterização tecnológida de linhagens de Trigo desenvolvidas para o cerrado mineiro**. Dissertação (Mestrado em Ciências do Alimentos) - Programa de Pós Graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2014.

MAHER, P. Potenciação da perda de glutationa e morte de células nervosas pelos metais de transição ferro e cobre: implicações para doenças neurodegenerativas relacionadas à idade. **Biologia e Radicais Livres**, v. 115, p. 92-104. 2018.

MANN, S. S.; RITCHIE, G. S. P. The influence of pH on the forms of cadmium in four west Australian soils. **Soil Research**, v. 31, n. 3, p. 255-270, 1993.

MARTINS, V. et al. Metabolic changes of Vitis vinifera berries and leaves exposed to Bordeaux mixture. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 82, p. 270–278, 2014.

MATSUBARA, Y.; ISHIGAKI, T.; KOSHIKAWA, K. Changes in free amino acid concentrations in mycorrhizal strawberry plants. **Scientia horticulturae**, v. 119, n. 4, p. 392-396, 2009.

MIYAZAWA, M. et al. Análise química de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Org.). **Man. Análises químicas solos, plantas e Fertil.** 2. Ed. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2009. P. 193-233.

MIOTTO, A. et al. Acumulação e disponibilidade de cobre em solos arenosos, ácidos e de vinha. **Comunicações em ciência do solo e análise de plantas**, v. 48, p. 1-7, 2017.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2.ed. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729p.

NOVAIS, R. F., ALVAREZ, V. H. & BARROS, N. F. **Fertilidade do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.

NUNES, A. B. de C. et al. Steel slag and phosphate nutrition of corn inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, 2019.

NUNES, J. L. S.; SOUZA, P. V. D.; MARODIN, G. A. B.; FACHINELLO, J. C. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em porta-enxerto de pessegueiro cv Okinawa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.1100-1106, 2008.

OLIVEIRA, D. E. C. et al. Fungos micorrízicos arbusculares e rizóbio no crescimento inicial de Acacia mangium Willd. em solo de mineração da região sudoeste do estado de Goiás. **Global Science And Technology**. v. 03, n. 01, 01-10, 2010.

PASZT, L. S. et al. The influence of bioproducts on root growth and mycorrhizal occurrence in the rhizosphere of strawberry plants ‘Elsanta’. **J. Fruit Ornam. Plant Res**, v. 19, n. 1, p. 13-34, 2011.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrihizal fungi for rapid assessment of infection. **Transactions of the Britidsh Mycological Society,** v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

PIMENTEL, Róberson Machado et al. Ecofisiologia de plantas forrageiras. **Pubvet**, v. 10, p. 636-720, 2016.

REINERT, D. J., ALBUQUERQUE, J. A., REICHERT, J. M., AITA, C. & ANDRADA, M. M. C. Limites críticos de densidade do solo para o crescimento de raízes de plantas de cobertura em Argissolo Vermelho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32, 1805-1816, 2008.

RIVERA-BECERRIL, F. Acúmulo de cádmio e tamponamento do estresse induzido por cádmio por micorriza arbuscular em três genótipos de *Pisum sativum* L. **J. Exp. Robô**. 371: 1177-1185, 2002.

RODRIGUES, P. T. A.; ORLANDELLI, R. C. Plantas como Ferramentas para a Remediação Ambiental: **UNICIÊNCIAS**, v. 22, n. 1, p. 38-44, 2018.

ROSA, D. J. et al. **Eficiência e estabilização de fungos micorrízicos pré-inoculados em porta-enxertos de videira no cultivo em casa de vegetação e a campo, com e sem toxicidade por cobre**. 2019.

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 e Técnica Vitivinícola**, v. 31, n. 1, p. 14-23, 2016.

ROSOLEM, CIRO ANTONIO et al. Morfologia radicular e suprimento de potássio às raízes de milheto de acordo com a disponibilidade de água e potássio. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 27, n. 5, p. 875-884, 2003.

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

RUSCITTI, M. et al. Melhoria da tolerância ao estresse de cobre em plantas de pimenta (*Capsicum annuum* L.) por inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. **Fisiologia Vegetal Teórica e Experimental**, v. 29, p. 37-49, 2017.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. dos S.; SILVEIRA, A. P. D. da. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1593-1600, 2007.

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, FABIANA SOARES DOS et al. Chemical amendment and phytostabilization of an industrial residue contaminated with Zn and Cd. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 5, p. 506-512, 2007.

SCHREINER, R.P. Effects of native and nonnative arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of 'Pinot noir' (Vitis vinifera L.) in two soils with contrasting levels of phosphorus. **Applied Soil Ecology**, v.36, p.205-215, 2007.

SECCO, D. et al. Atributos físicos e produtividade de culturas em um Latossolo Vermelho argiloso sob diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 3, p. 407-414, 2005.

SHEN, H.; CHRISTIE, P.; LI, X. Absorção de zinco, cádmio e fósforo por milho micorrízico arbuscular (*Zea mays* L.) de um solo calcário de fósforo disponível com baixo teor de zinco e cádmio. **Environ. Geochem. Health** 28: 111-119, 2006.

SILVA, S. DA; SIQUEIRA, J. O.; SOARES, C. R. F. S. 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.

SILVEIRA, S.V.; SOUZA, P.V.D.; KOLLER, O.C. Influência de fungos micorrízicos arbusculares sobre o desenvolvimento vegetativo de abacateiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.37, p.303-309, 2002.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis.** 3 ed London, UK: Academic Press; 2008. 800 p.

SOBRAL, L. F. et al. Comparison of copper, manganese, and zinc extraction with Mehlich 1, Mehlich 3, and DTPA solutions for soils of the Brazilian coastal tablelands. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 44, n. 17, p. 2507-2513, 2013

SOARES, C. R. F. S; SIQUEIRA, J. O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. **Biology and Fertility of Soils**, v. 44, n. 6, p. 833-841, 2008.

STOPPLER, H.; KOLSCH, E.; VOGTMANN, H. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in varieties of winter wheat in a low external input system. **Biological Agriculture and Horticulture**, Bicester, 7:191-199, 1990.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed; 2017, 888p.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995. 174p.

TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **The Journal of Ecology**, p. 995-1001, 1975.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMETAL PROTECTION AGENCY. Method 3050B: Acid digestion of sediments. **Sludges. And soils**. Wasthington. 1996. 12p.

VINHAL-FREITAS, I. C. et al. Adsorção e dessorção de metais no solo e coeficientes de isotermas de Freundlich e Langmuir. **Agropecuária técnica**, v. 31, n. 2, p. 153-163, 2010.

VANDRESEN, Júlia et al. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 4, p. 753-765, 2007.

ZHU, Y.; CHRISTIE, P.; LAIDLAW, A. Scott. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil. **Chemosphere**, v. 42, n. 2, p. 193-199, 2001.

ZORTÉA, T. et al. Toxicidade do cobre em função da correção do pH em dois solos naturais: Uma abordagem com plantas e organismos edáficos. **Scientia agraria**, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2016.

5 CAPÍTULO 3: FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES E BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO VEGETAL NA CULTURA DO TRIGO EM DIFERENTES DOSES DE COBRE NO SOLO

5.1 RESUMO

O cobre é um micronutriente essencial para o crescimento dos vegetais, pois faz parte da constituição de enzimas e proteínas, no entanto, quando em elevadas concentrações no solo pode se tornar tóxico. A associação entre microrganismos e plantas é uma alternativa para redução dos efeitos negativos do excesso de cobre às plantas. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência da co-inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias promotoras de crescimento de plantas na cultura do trigo cultivado em solo contaminado com cobre. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo bifatorial 5 X 2, sendo cinco isolados (*Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana; Gigaspora margarita; Acaulospora colombiana+Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita+Azospirillum brasilense;*), duas doses de cobre (0 = teor natural do solo e 400 mg kg^{-1}), com 8 repetições. Avaliou-se a altura de plantas, n° de perfilhos, comprimento de raiz, volume de raiz, massa seca da parte aérea, massa seca de raiz, área superficial específica, diâmetro médio de raíz, teor de cobre na raiz, parte aérea e grão e porcentagem de colonização micorrízica. A inoculação dos fungos micorrízicos reduzem o teor de cobre no grão de trigo embora a coinoculação A. colombiana e A. brasilense apresente efeito antagônico resultando em maior teor de cobre na parte aérea do trigo. A bactéria A. brasilense como promotora de crescimento associada aos fungos micorrízicos A. colombiana e G. margarita reduz a colonização micorrízica nas raízes do trigo. A bactéria A. brasilense promove maior produtividade, altura de plantas, número de perfilhos e massa seca da parte aérea do trigo.

Palavras-chave: Trigo. Micorrizas Arbusculares. *Azospirillum brasilense.* Metal pesado.

5.2 ABSTRACT

Copper is an essential micronutrient for the growth of vegetables, as it is part of the constitution of enzymes and proteins, however, when in high concentrations in the soil it can become toxic. The association between microorganisms and plants is an alternative to reduce the negative effects of excess copper on plants. The objective of this work was to determine the influence of the co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria in the culture of wheat grown in soil contaminated with copper. The experimental design used was completely randomized in a 5 X 2 bifactorial arrangement, with five isolates (Azospirillum Brasilense; Acaulospora Colombiana; Gigaspora Margarita; Acaulospora Colombiana + Azospirillum Brasilense; Gigaspora Margarita + Azospirillum Brasilense;), two copper doses (0 = natural content of the soil and 400 mg kg-1), with 8 repetitions. Plant height, number of tillers, root length, root volume, dry mass of the aerial part, dry mass of the root, specific surface area, average root diameter, copper content in the root, aerial part and grain and percentage of mycorrhizal colonization. The inoculation of mycorrhizal fungi reduces the copper content in the wheat grain, although the coinoculation of A. colombiana and A. brasilense presents an antagonistic effect, resulting in higher copper content in the aerial part of the

wheat. The bacteria A. brasilense as a growth promoter associated with the mycorrhizal fungi A. colombiana and G. margarita reduces mycorrhizal colonization in wheat roots. The A. brasilense bacterium promotes greater productivity, plant height, number of tillers and shoot dry mass.

Key-words: Wheat. Arbuscular Mycorrhizae. Azospirillum brasilense. Heavy metal.

5.3 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum*) é o segundo cereal mais produzido no mundo e em diversos países é a principal fonte de proteínas e calorias (WANG et al., 2012). Ao longo da safra 2019/2020, o trigo colhido ocupou uma área de 216,5 milhões de hectares no mundo inteiro, obtendo uma produção de 764,3 milhões de toneladas, 4,6% superior à safra anterior (USDA, 2020). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), entre 2009 e 2019, o Brasil cultivou 2,2 milhões de hectares de trigo por safra, com produção média de 5,4 milhões de toneladas, representando metade do consumo anual, que foi em média 11 milhões de toneladas (CONAB, 2020). O cultivo nacional se dá principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste onde é a cultura de inverno de maior importância, comportando 87,3% da produção brasileira (CONAB, 2020). No entanto, a alta demanda de consumo torna o Brasil dependente de importações para suprir o mercado interno (COSTA et al., 2013).

Os metais são considerados um grupo de grande relevância ambiental, por causa do seu potencial de bioacumulação nos níveis tróficos, constituindo um fator de contaminação (CAIRES et al., 2011). Um solo é considerado contaminado quando a substância de interesse estiver acima do limite crítico, denominado valor de intervenção (BORGES JÚNIOR et al., 2008; SILVA et al., 2019). O uso de plantas e microrganismos tem se mostrado um grande potencial para recuperação de áreas contaminadas com cobre (AGNELLO et al., 2016).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são organismos biotróficos obrigatórios que estabelecem relação simbiótica com um grande número de espécies de plantas (cerca de 80%) (SMITH e READ, 2008), contribuindo para o seu desenvolvimento, produtividade, proteção contra patógenos, maior resistência a estresses ambientais e redução na utilização de fertilizantes minerais e defensivos, em decorrência da sua capacidade de produção e acúmulo de compostos bioativos e de crescimento, bem

como, melhoria nas qualidades físico-químicas do solo (LINS et al., 2007; CAPRONI et al., 2005).

As plantas apresentam vários mecanismos que as permitem tolerar altos teores de metais no solo sendo que a associação com micorrizas exerce um papel fundamental para diminuir o efeito tóxico à planta, restringindo a entrada desses elementos na célula (ALI et al., 2013). Pesquisas realizadas em áreas de mineração de carvão, em ambientes pobres, degradados e com elevadas doses de metais no solo, demonstram que a inoculação de FMAs reduziu os efeitos tóxicos dos metais para as plantas, favorecendo o seu crescimento e desenvolvimento nestes ambientes (LINS et al., 2007; ANTONIOLLI et al., 2010).

Além do potencial de fixação de N_2, bactérias do gênero *Azospirillum* tem sido estudadas quanto a capacidade de promover o crescimento de plantas. Essas bactérias além de reduzirem o custo de produção e a dependência do agricultor por insumos industrializados (NUMOTO et al., 2019; RADWAN et al., 2004; MEDEIROS et al., 2007), promovem alterações hormonais, podendo levar a um maior crescimento radicular, e consequentemente maior absorção de água e nutrientes (BASHAN et al., 2005). Diversos estudos demostram também a capacidade de diferentes gêneros de bactérias crescerem em solos com altas concentrações de metais (UZEL e OZDEMIR, 2009; CHEN et al., 2008; FLORENTINO et al., 2009). Assim, por essas características, as bactérias apresentam potencialidades para experimentos visando a biorremediação de solos contaminados por metais, em associação com espécies vegetais (MATSUDA; MOREIRA; SIQUEIRA, 2002).

Com base no exposto, a dúvida que ainda persiste é se a inoculação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (*Azospirillum brasilense*) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) promovem o desenvolvimento do trigo em áreas contaminadas com cobre. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi determinar a influência da co-inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias promotoras de crescimento de plantas na cultura do trigo cultivado em solo contaminado com cobre.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, em casa de vegetação do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus de Frederico Westphalen, entre os meses de março e novembro de 2020.

O solo utilizado no experimento foi caracterizado como um Latossolo Vermelho, coletado em área de produção agrícola na camada de 0-20 cm, com textura de 70% de argila. Porém, o substrato para a condução do experimento foi produzido artificialmente a partir do solo original com a adição de areia média na proporção de 30% (v/v), para obter textura de 52,5 % de argila. Sendo esterilizado em autoclave à pressão de 1 atm (121 °C) por 30 minutos, processo repetido por três vezes. Após, foi retirada uma amostra deste substrato para determinação de atributos químicos e físicos (Tabela 1), conforme metodologia descrita pela Embrapa (1997) para textura e por Tedesco et al., (1995) para demais atributos.

Tabela 1: Textura e análise química do solo utilizado para o cultivo do trigo.

----------Parâmetros----------								
Textura	pH	MO	P	K	Mg	Al+H	Cu	Zn
%	1:1	%	----------mg/dm^3----------					
52,5	5,2	0,9	0,85	24,97	1,92	1,85	8,1	0,59

De posse da análise do solo aplicou-se calcário para correção do pH para 6.5, misturando-se de forma homogênea por agitação em saco plástico. No mesmo dia foi realizada a contaminaçao do solo com as determinadas doses de cobre, na forna de sulfato de cobre ($CuSO_4 . 5H_2O$) sendo homogeneizado por agitação em saco plástico e posteriormente incubados por 60 dias para estabilização dos solos artificiais. A adubação foi realizada uma semana antes da semeadura do trigo, através de adubo químico formulado NPK 10-20-20 para espectativa de produtividade de 4 toneladas seguindo as recomendações do Manual de Adubação e Calagem para o Rio Grande do Sul e Santa Catarina (2016).

Os Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) foram oriundos da Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG) do Laboratório de Micorrizas da Universidade Regional de Blumenau – SC. A inoculação foi realizada no momento da semeadura do trigo, na qual foram adicionados 30 esporos por vazo de cada um dos isolados.

Utilizou-se o inoculante líquido Azo Total Max composto por bactérias do gênero Azospirillum brasilense (AbV5 e AbV6) na concentração de 2,000,000 UFC sendo homogeneizado com a semente no momento da semeadura.O inoculante utilizado foi

fornecido pela empresa Total Biotecnologia Indústria e Comércio Ltda, com sede no município de Curitiba – PR, sendo desenvolvidas pela Total Biotecnologia e EMBRAPA.

A cultivar de Trigo utilizada foi a TBIO Sinuelo e para o cultivo das plantas em casa de vegetação foram utilizados vasos plásticos com capacidade de 5 litros, preenchidos com 5Kg de solo. A semeadura foi realizada na segunda quinzena de junho, onde em cada vaso foram semeadas 10 sementes, realizando-se o desbaste 15 dias após a germinação, deixando-se 4 plantas por vaso até o final do experimento, sendo este o final do ciclo produtivo da cultura. A irrigação foi controlada diariamente por sistema de gotejamento, de acordo com a necessidade da cultura, mantendo-se o solo em 80% da capacidade de campo.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo bifatorial 5 x 2, sendo cinco isolados (*Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana; Gigaspora margarita; Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense;*), duas dose de cobre (0 = teor natural do solo e 400 mg kg^{-1}), com 8 repetições.

Após a coleta das plantas, as raízes foram separadas do solo por meio de lavagem com água e com auxílio de peneiras de 0,5 e 1,0 mm de malha e a separação da parte aérea e radicular foi por meio de corte na região do hipocótilo. Após, determinou-se a área superficial específica (ASE) das raízes, conforme Tennant (1975), e o diâmetro médio de raíz (DMR), por meio do programa computacional SAFIRA (JORGE; RODRIGUES, 2010).

A parte aérea, raízes e grãos foram separados e moídos em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 10 mesh para a determinação dos teores de cobre através de digestão nítro-perclórica (3:1) e determinação em espectrofometria de absorção atômica, conforme descrito por Miyazawa et al., (2009).

Determinou-se a produtividade expressa em gramas por 4 plantas. Para estimativa de produtividade os grãos foram colhidos, pesados, aferido a umidade e posteriormente corrigido esse peso para umidade de 13%, conforme equação (1).

$$\text{Peso corrigido para Ud\%} = \text{Peso úmido x } \left(\frac{100\ - \text{Úmidade atual}}{100 - \text{Ud\%}}\right) \qquad (1)$$

Sendo, Ud = umidade desejada

Foram realizadas também avaliações morfológicas da cultura do trigo sendo essas: altura de plantas (AP) em cm, medida do solo até a ponta da folha bandeira; n° de perfilhos, através da identificação da planta mãe e contagem dos demais perfilhos;

comprimento de raiz (CR) em cm; volume de raiz (VR) com auxílio de proveta graduada; massa seca da parte aérea (MSA); massa seca de raiz (MSR), sendo a planta seccionada na região do hipocótilo e ambas as partes secas em estufa a 50 °C até atingirem peso contante e pesadas em balança analítica.

A metodologia utilizada para determinar a porcentagem de colonização micorrízica (PC) baseou-se na coloração de raízes com Azul de Tripan 0,05% conforme descrito por Phillips e Hayman (1970), para visualização da colonização dos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em estereomicroscópio com aumento de 60x (BRUNDRETT et al., 2009). A colonização foi estimada em 5 repetições por planta, totalizando 35 repetições por tratamento, pelo método da placa quadriculada (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980).

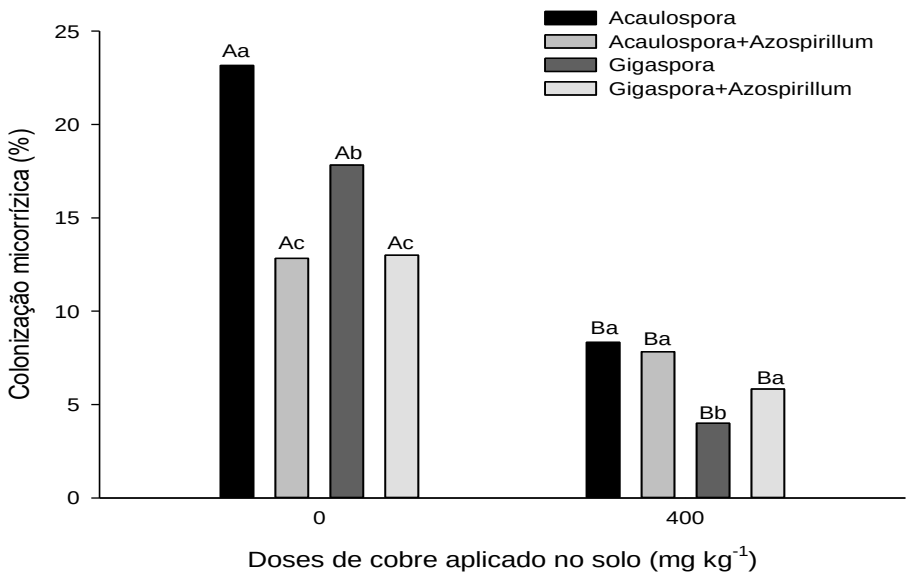
Os resultados foram submetidos a análises de variância e quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott knot. Os resultados foram analisados com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), considerando como referência os níveis de significância maiores que 95%.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demostraram interação significativa entre as fontes de inóculo e as doses de cobre aplicado no solo para o percentual de colonização micorrízica (Figura 1). Observa-se que os FMAs colonizaram as raízes do trigo com diferentes graus de intensidade, variando com a fonte de inóculo utilizada e os diferentes níveis do metal no solo.

Figura 1: Percentual de colonização micorrízica em raízes de trigo cultivado em diferentes doses de cobre (0, teor natural e 400 mg kg^{-1} de solo), com inoculação de *Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense.*

.



Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra maiúscula entre as doses e minúscula na mesma dose, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

A porcentagem de colonização micorrízica das raízes de trigo foi influenciada negativamente pela dose de cobre no solo. Para a espécie de FMAs *A. colombiana* observa-se uma redução de 64% na colonização das raízes quando comparado a dose 0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo, respectivamente. A taxa de colonização micorrízica em raízes de videira é reduzida drásticamente com o aumento no teor de Cu no solo (ROSA, 2019; ANTONIOLLI et al., 2010).

Para a dose zero de cobre no solo, a porcentagem de colonização micorrízica foi maior nos tratamentos que continham os fungos inoculados de forma isolada em comparação com as coinoculações, destacando-se *A. colombiana* que apresentou 24% de raízes colonizadas (Figura 1). A taxa de colonização de raízes de trigo é superior quando somente FMAs são inoculados, em comparação com os tratamentos com coinoculação de fungos micorrízicos e bactérias diazotróficas, atribuindo-se essa redução na colonização nos tratamentos com coinoculação devido à competição entre os microganismos (SALA et al., 2007). O *Azospirillum* spp. e os FMAs, podem estar presentes na mesma área cortical das raízes, tornando possível uma interação direta entre planta-bactéria-fungo, o que pode resultar em competição por compostos fotossintetizados (BIRÓ et al., 2000).

Na dose 400 mg de cobre kg^{-1} de solo, o fungo *A. colombiana* e as co-inoculações de FMAs-bactérias apresentaram maior colonização micorrízica (Figura 1). O trigo, por seu sistema radicular fasciculado, apresenta pouca dependência micorrízica (SALA et al., 2007). Porém alguns fatores estão ligados e exercem ampla influência na associação

micorrízica como o alto teor de metais tóxicos no solo (ROSA, 2019). A colonização micorrízica é afetada diretamente por elevadas doses de cobre no solo, exercendo efeito negativo sobre seus processos metabólicos (BANU et al., 2009). Altas doses de cobre no solo reduzem cerca de 24% a colonização micorrízica em mudas de *Eucalyptus grandis* (ANTONIOLLI et al., 2010).

As variáveis altura de planta, número de perfilhos e massa seca da parte aérea, não evidenciaram interação significativa entre os fatores de variação, apresentando apenas efeito simples para as doses de cobre e fontes de inóculo. De maneira geral, a dose 400 mg kg^{-1} de cobre no solo, afetou negativamente todas as variáveis, quando comparada a dose zero (Tabela 2). Reduções na altura de plantas e massa seca da parte aérea em solos com altos níveis de cobre são relatadas na literatura (SANTOS et al., 2004; SANTOS et al., 2010; STEFFEN et al., 2011; FREITAS et al., 2020).

Tabela 2: Médias de altura de planta (AP), número de perfilhos (NP), e massa seca da parte aérea (MSA), de plantas de trigo, cultivado em solo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum Brasilense; Acaulospora Colombiana, Acalospora Colombiana + Azospirillum Brasilense; Gigaspora Margarita* e *Gigaspora Margarita + Azospirillum Brasilense.*

Doses	AP (cm)	NP	MSA (g)
0	50,63 A	10,06 A	12,78 A
400	43,33 B	8,80 B	10,18 B
Isolados			
Azospirillum b.	53,91 A	11,58 A	12,35 A
Acaulospora	45,66 C	9,50 B	11,70 A
Acaulospora+Azosp.	43,66 C	8,66 B	10,60 B
Gigaspora	48,33 B	9,16 B	11,88 A
Gigaspora+Azosp.	43,33 C	8,25 B	10,86 B
CV (%)	6,93	17,53	6,97

Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

A capacidade de emitir perfilhos pelo trigo é afetada negativamente em altas doses de cobre no solo. O desenvolvimento e a participação dos perfilhos na produção final de plantas de trigo, são amplamente citados na literatura por Alves et al.(2000), Alves et

al.(2005), Valério el at.(2009). A cultura da aveia sofre redução na capacidade de emitir perfilhos em altas doses de cobre, reduzindo sua capacidade produtiva (PANZIEIRA et al., 2018). Estes resultados demostram que apesar do cobre ser um elemento essencial para o crescimento de plantas, quando em altas concentrações no solo, se torna um elemento tóxico reduzindo a produtividade das plantas (MICHAUD et al., 2008).

A inoculação com *Azospirillum brasilense* possibilitou maiores médias para altura de planta (AP), número de perfilhos (NP) e massa seca da parte aérea (MSA) quando comparado com as demais fontes de inóculo. O nitrogênio possui papel fundamental no desenvolvimento do trigo por ser constituinte essencial de proteínas e interferir diretamente no processo fotossintético (DELGADO et al., 2016). O perfilhamento de plantas de trigo é maior quando inoculadas com *Azospirillum brasilense* e esse aumento pode ser considerado um dos mecanismos de promoção no rendimento em resposta a inoculação (FUKAMI et al., 2016).

Vários trabalhos tem demostrado os benefícios do uso de inoculantes do gênero *Azospirillum* em gramíneas, tais como aumento na produtividade de grãos, aumento na matéria seca, altura de planta, diâmetro de colmo e perfilhamento (ANDRADE et al., 2016; COELHO et al., 2018; QUADROS et al., 2014; NOVAKOWISKI et al., 2011). A inoculação de sementes de *Brachiaria* spp., em solos tropicais degradados do Brasil, possibilitou ganhos de 24,7% em massa de forragem quando combinada a inoculação com a adubação nitrogenada, em comparação a ganhos de apenas 4,6% quando aplicou-se somente nitrogênio (HUNGRIA et al., 2016).

Houve interação significativa entre as doses de cobre e as fontes de inóculo para o volume de raiz (VR), comprimento de raiz (CR) e massa seca de raiz (MSR) de trigo, sendo que todas essas variáveis foram reduzidas com a adição de cobre no solo (Tabela 3). Quando cultivada em solo contaminado com cobre, a cultura da aveia apresenta redução na área foliar, massa seca de parte aérea, comprimento e volume de raiz (PANZIEIRA et al., 2018). A redução no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular é um dos sintomas mais evidentes do efeito tóxico do cobre (KUKOLA; RAUTIO; HUTTUNEN, 2000).

Tabela 3: Volume de raiz (VR), comprimento de raiz (CR) e massa seca de raiz (MSR), de plantas de trigo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense.*

Inoculação	VR (cm^3)		CR (cm)		MSR (g)	
	0	**400**	**0**	**400**	**0**	**400**
Azospirillum B.	24,66 bA	17,83 aB	39,00 aA	25,16 cB	10,63 aA	7,39 aB
A. colombiana	23,66 bA	20,16 aB	38,50 aA	31,50 aB	9,65 aA	6,27 bB
Acau+Azosp	18,00 cA	16,83 aA	37,00 aA	25,50 cB	7,53 bA	5,79 bB
G. margarita	25,50 aA	17,00 aB	38,16 aA	31,00 aB	9,71 aA	8,40 aB
Gig+Azosp	22,16 bA	17,00 aB	36,83 aA	28,50 bB	8,21 bA	4,94 bB
CV (%)	13,48		6,79		13,29	

Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

Na dose zero, a inoculação com *G. Margarita* possibilitou maior volume radicular do trigo (Tabela 3). A rede de micélios dos FMAs conectada as raízes é capaz de aumentar o volume de raiz das plantas, consequentemente maior área de solo explorado, sendo mais eficientes na absorção de água e nutrientes pelos vegetais (SMITH e READ, 2008). Os fungos micorrízicos além de aumentarem o volume de solo explorado pelos vegetais, promovem maior eficiência na utilização de nutrientes como o fósforo (SALA et al., 2007).

A inoculação dos FMAs *G. margarita, A. colombiana* e da bactéria *A. brasilense* de forma separada induziu maior massa seca de raiz de trigo na dose zero (Tabela 3). Os fungos micorrízicos estabelecem relação mutualística entre a raiz da planta hospedeira e o micélio (BRUDRETT, 2009), aumentando o comprimento, volume e massa seca de raiz, possibilitando uma maior absorção de água e nutrientes pelas plantas (MACHINESKI et al., 2009; ZHAO et al., 2015; AGUEGUE et al., 2017; SILVA et al., 2018). O *Azospirillum* por sua vez coloniza a rizosfera e tecidos internos, produzindo fito-hormônios e substâncias que levam à proteção e aumento do sistema radicular, e consequentemente, maior absorção de água e nutrientes (COHEN et al., 2015). O

tratamento de sementes com *A. brasilense* proporciona maior comprimento e massa seca de raiz de trigo em relação a testemunha (RAMPIM et al., 2012).

Analizando-se o comprimento de raiz na dose 0 mg de cobre por kg^{-1} de solo, não foi observada diferença significativa entre as fontes de inóculo, porém o *A. brasilense* apresentou a maior média, com 39 cm de comprimento. Vários efeitos na morfologia de raízes colonizadas por bactérias diazotróficas são relatados na literatura, como o aumento no comprimento radicular, número de ramificações, pelos radiculares e área superficial específica de raízes (DOBBELAERE et al., 1999; ROESCH et al., 2005). Estes efeitos, são geralmente relacionados à produção de hormônios de crescimento pelas bactérias (TSAVKELOVA et al., 2006).

A área superficial específica (ASE) e diâmetro médio (DM) de raízes de trigo não apresentaram interação significativa entre as doses de cobre e as fontes de inóculo, apresentando apenas efeito simples significativo para as fontes de variação, em que as duas variáveis reduziram com a dose de 400 mg kg^{-1} de cobre no solo (Tabela 4). O cultivo de trigo em áreas com elevadas concentrações de cobre no solo, acarreta redução no diâmetro médio e área superficial específica de raízes de trigo. Estas características estão diretamente correlacionadas com a capacidade das raízes de captar água e nutrientes do solo (BOUMA; NIELSEN; KOUTSTAAL, 2000). Em condições de elevada exposição ao cobre, a atividade dos meristemas radiculares tende a diminuir em plantas com baixa tolerância a metais pesados (PEREIRA et al., 2013). Com isso, a área superficial específica e o diâmetro médio de raiz são afetados, reduzindo a capacidade de transporte de fotoassimilados para as raízes, afetando o seu desenvolvimento e consequentemente a capacidade de absorção de água e nutrientes pelas plantas (YRUELA 2005; CASTRO et al., 2009).

Tabela 4: Médias de Área superficial específica (ASE) e Diâmetro médio (DM) de raízes de plantas de trigo, cultivado em solo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana+ Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita e Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense.*

Doses	ASE (mm^2)	DM (mm)
0	44174,72 A	1,26 A
400	31939,24 B	0,57 B
Isolados		
Azospirillum b.	42287,66 A	0,93 A
A. colombiana	39811,05 A	0,86 B
Acau+Azosp	34819,18 B	0,94 A
G. margarita	36143,76 B	0,81 B
Gig+Azosp	35143,17 B	0,97 A
CV (%)	20,43	16,11

Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

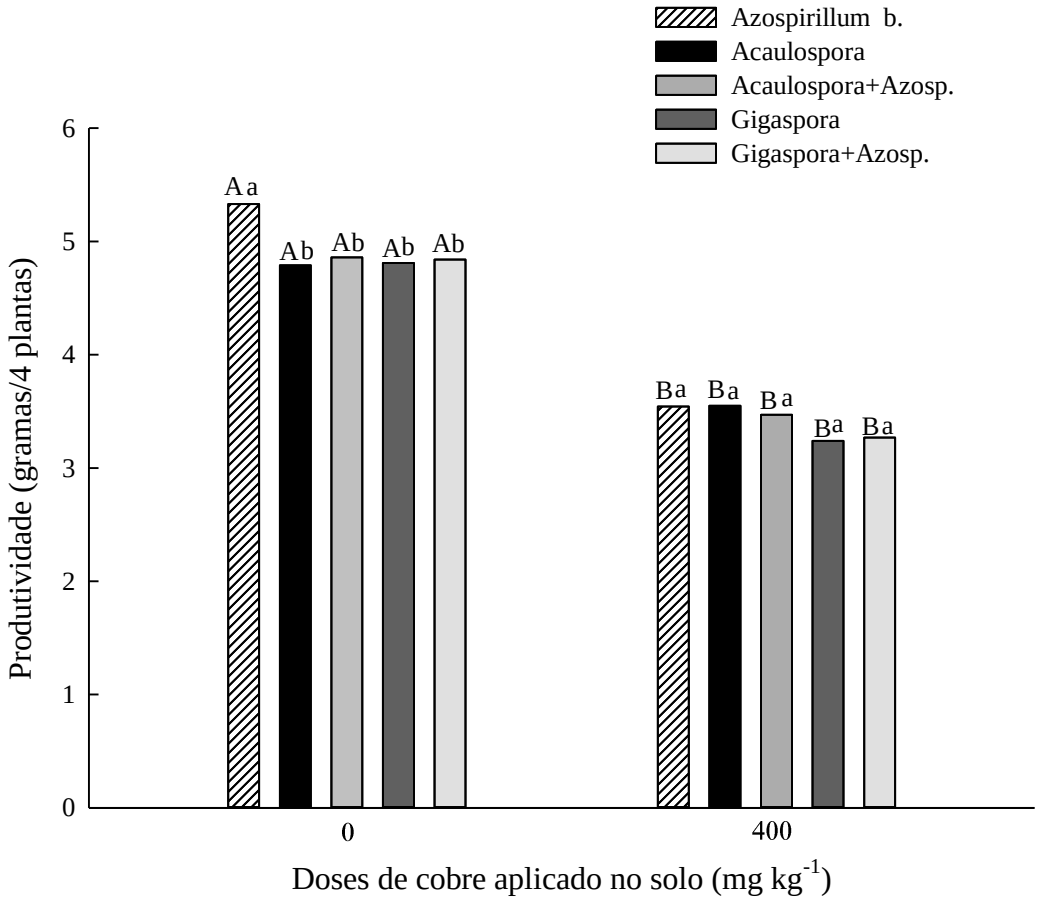
A área superficial específica radicular foi significativamente maior com a inoculação isolada de *A. colombiana* e *A. brasilense* (Tabela 4). Esse efeito pode estar relacionado a competição entre os FMAs e bactérias na colonização das raízes, pois, quando inoculados fungos e bactérias de forma conjunta em cereais, ambos os endófitos podem estar presentes na mesma área cortical das raízes e tornar possível uma interação direta entre planta-bactéria-fungo, o que pode resultar em competição por compostos fotossintetizados (BIRÓ et al., 2000).

A inoculação com a bactéria *Azospirillum b.* e as coinoculações testadas proporcionaram maior diâmetro médio de raízes de trigo. Os benefícios proporcionados ao sistema radicular dos vegetais, pela inoculação de FMAs e bactérias diazotróficas incluem o aumento na densidade do sistema radicular, quantidade de pelos radiculares, formação e desenvolvimento de raízes e alterações na arquitetura de raízes (BRYLA e DUNIWAY 1997; LIMA et al., 2015; MORAES et al., 2015; CASANOVAS et al., 2002; SOUZA et al., 2017).

Os resultados evidenciaram interação significativa entre as doses de cobre e fontes de inóculo para a produtividade do trigo (Figura 2). Os resultados evidenciaram que a inoculação com *A. brasilense* possibilitou maior produtividade do trigo na dose zero de cobre no solo. O *A. brasillense* desempenha a função de fixar biologicamente o nitrogênio, além de aumentar a superfície de absorção das raízes da planta e volume de solo explorado (REPKE et al., 2013; MILLÉO e CRISTÓFOLI, 2016). O nitrogênio é fundamental no desenvolvimento do trigo por ser constituinte essencial de proteínas e

interferir diretamente no processo fotossintético (DELGADO et al., 2016). O perfilhamento de plantas de trigo é também maior quando inoculadas com *A. brasilense* como demostrado (Tabela 2) e esse aumento pode ser considerado um dos mecanismos de promoção no rendimento em resposta a inoculação (FUKAMI et al., 2016).

Figura 2: Produtividade de trigo cultivado sob diferentes doses de cobre (0, teor natural e 400 mg kg^{-1} de solo) e inoculações com *Azospirillum brasilense*; *Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense.*



Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra maiúscula entre as doses e minúscula na mesma dose, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

Para a dose 400 mg kg^{-1} de cobre as fontes de inóculo não se diferenciaram, no entanto, a produtividade reduziu significativamente quando comparado a dose zero com a 400 mg kg^{-1} de cobre no solo (Figura 2). Conforme tabela 2, altas doses de cobre afetam a capacidade do trigo de emitir perfilhos. A capacidade e o potencial de emitir perfilhos

estão diretamente correlacionadas com a produção de plantas de trigo (ALVES et al., 2005; VALÉRIO et al., 2009). O cobre quando em altas concentrações no solo afeta vários processos morfofisiológicos nas plantas, dentre eles a redução da taxa fotossintética, da divisão celular e da capacidade de absorção e translocação de água e nutrientes (MARTINS, 2014; TAIZ et al., 2017). Estes resultados demostram que apesar de ser um micronutriente, o cobre em altas concentrações se torna um elemento tóxico reduzindo a capacidade produtiva das plantas (MICHAUD et al., 2008).

O teor de cobre na raiz (CuR), parte aérea (CuPA) e grão (CuG) apresentaram interação significativa entre os isolados e as doses de cobre aplicadas no solo, sendo que para todas as variáveis a concentração de cobre foi significativamente superior na dose 400 mg kg^{-1} de cobre no solo (Tabela 5). O teor de cobre na raiz do trigo aumentou com a aplicação do metal no solo. Quando comparadas as doses 0 e 400 mg kg^{-1} de cobre, percebe-se que a inoculação de *A. brasilense, A. colombiana* e *G. margarita* apresentaram um acréscimo em média de três a quatro vezes maior no acúmulo desse metal na raiz. O uso de rizobactérias resistentes a metais pesados é uma alternativa que pode auxiliar no desenvolvimento e crescimento de plantas em solo contaminado, sendo uma importante estratégia para recuperar áreas contaminadas com cobre (RAJKUMAR; FREITAS, 2008; ESTRELA; CHAVES; SILVA, 2018).

Tabela 5: Teor de cobre na raiz, parte aérea e grão de plantas de trigo com duas doses (0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo), e inoculação de *Azospirillum brasilense; Acaulospora colombiana, Acaulospora colombiana + Azospirillum brasilense; Gigaspora margarita* e *Gigaspora margarita + Azospirillum brasilense.*

Inoculação	CuR (mg kg^{-1})		CuPA (mg kg^{-1})		CuG (mg kg^{-1})	
	0	**400**	**0**	**400**	**0**	**400**
Azospirillum b.	119,5 bB	440,4 aA	5,61 aB	13,84 bA	8,26 aB	10,91 aA
A. colombiana	92,5 bB	419,9 aA	5,28 aB	8,68 cA	5,97 bB	8,35 bA
Acau+Azosp	156,8 aB	349,5 bA	4,96 aB	17,26 aA	8,14 aA	8,93 bA
G. margarita	143,1 aB	451,7 aA	7,51 aA	8,77 cA	6,43 bB	8,77 bA
Gig+Azosp	124,9 bB	333,1 bA	7,13 aA	9,53 cA	8,62 aB	11,71 aA
CV (%)	12,85		25,31		16,47	

Fonte Autor (2021).
*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05) de probabilidade de erro.

Os fungos micorrízicos arbusculares desempenham função importante na proteção da toxidade por metais pesados as plantas, pois possuem mecanismos que evitam a toxidade, como a compartimentalização do Cu nos esporos e por consequência, redução da disponibilidade de Cu às raízes (SOARES e SIQUEIRA, 2008; CORNEJO et al., 2013). Outro mecanismo é a produção de glomatina, uma glicoproteína que é secretada e proporciona a complexação dos metais (FOLLI-PERREIRA et al. 2012). Os efeitos também são amenizados pela melhoria do estado nutricional das plantas e pela formação de compostos metal-fosfato, complexando os metais nas raízes e evitando seu transporte para a parte aérea (AMBROSINI et al. (2015; SOARES e SIQUEIRA, 2008).

Para Cu na parte aérea os teores variaram entre 4,96 e 17,26 mg kg^{-1} quando avaliado na dose 0 e 400 mg^{-1} de cobre no solo, respectivamente. Na dose zero (teor natural do solo), os tratamentos não se diferenciaram, no entanto, a aplicação de cobre no solo acarretou um aumento significativo do metal nos tecidos das plantas para todos os tratamentos na dose 400 mg kg^{-1} de cobre, sendo que, o que mais se destacou foi a coinoculação *A. colombiana/A. brasilense*, seguido do *A. brasilense* com 17,26 e 13,84 mg kg^{-1} de cobre, respectivamente.

Bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos podem desenvolver diferentes mecanismos de resistência ao cobre, portanto a associação de FMAs e bactérias diazotróficas favorecem o crescimento de plantas em ambientes contaminados podendo ser utilizados como uma alternativa para remoção do cobre no solo (KHAN, 2005; ANDREAZZA et al., 2010; ANDREAZZA et al., 2013). A resposta ao cobre, é mais acentuada em trigo do que em outras culturas anuais, sendo que a deficiência de cobre nesta cultura pode causar a esterilidade masculina, também conhecido como chochamento, quando o teor de cobre na folha for inferior que 3,3 mg kg^{-1}, sendo que concentrações normais variam entre 5 e 20 mg kg^{-1} (BENTON, 1991; BONA et al. 2016; BONA et al., 2016). Neste sentido, o cultivo de trigo inoculado com fungos e bactérias em solo contaminado com 400 mg de cobre kg^{-1} de solo não ultrapassa níveis definidos pelas legislações vigentes.

O teor de cobre no grão aumentou significativamente para todos os isolados quando comparadas as doses 0 e 400 mg kg^{-1} de cobre no solo. Para as duas doses de cobre no solo, a inoculação de *A. brasilense* e as coinoculaçãos fungo/bactéria se mostraram superiores para cobre no grão. Para a dose 400 mg kg^{-1} de cobre no solo, o tratamento com coinoculação de *G. margarita* + *Azospirillum brasilense* com 11,71 mg

kg^{-1} se mostrou superior aos demais, não se diferenciando do *A. brasilense* com 10,91 mg kg^{-1} de cobre no grão. Rizobactérias resistentes a metais pesados podem auxiliar na aquisição dos contaminantes, por melhorar o crescimento de plantas (KHAN, 2005; ESTRELA; CHAVES; SILVA, 2018). Por outro lado, os fungos micorrízicos possibilitaram um menor teor de cobre no grão na dose 400 mg kg^{-1} de cobre no solo. Os fungos micorrízicos atuam na proteção da toxidade de metais por possuírem capacidade de compartimentalizar o cobre nos esporos e produção de glomatina substância que reduz a translocação do contaminante (GONZÁLVES-CHÁVEZ et al., 2004; CORNEJO et al., 2013). Outra característica que reduz a mobilização para o grão é a fitoestabilização e imobilização dos metais na raiz (SOARES e SIQUEIRA, 2008; SANTOS et al., 2010). De acordo com o decreto n° 55.871 de 26 de março de 1965 (Anvisa, 1965) e a Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação (ABIA, 1965) os limites máximos de tolerância (LMT) em alimento para Cu é de 30 mg kg^{-1}. Portanto, em todos os tratamentos os níveis de cobre no grão de trigo ficaram abaixo dos limites máximos previstos pelas legislações.

5.6 CONCLUSÃO

A inoculação dos fungos micorrízicos reduzem o teor de cobre no grão de trigo embora a coinoculação *A. colombiana* e *A. brasilense* apresente efeito antagônico resultando em maior teor de cobre na parte aérea do trigo.

A bactéria *A. brasilense* como promotora de crescimento associada aos fungos micorrízicos *A. colombiana* e *G. margarita* reduz a colonização micorrízica nas raízes do trigo.

A bactéria *A. brasilense* promove maior produtividade, altura de plantas, número de perfilhos e massa seca da parte aérea do trigo.

5.7 REFERÊNCIAS

ABIA (Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos). **Compêndio da legislação dos alimentos**. São Paulo, 1965.

AGNELLO, A. C. et al. Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation. **Science of the Total Environment**, v. 563, p. 693-703, 2016.

AGUEGUE, M. R. et al. Arbuscular mycorrhizal fertilization of corn (Zea mays L.) cultivated on ferrous soil in southern benin. **Journal of Agricultural Studies,** v.5, p.99 - 115, 2017.

AMBROSINI V. G. et al. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on young vines in 23 copper-contaminated soil. **Brazilian Jour. Microbiology,** 46, 1045- 1052, 2015.

ANDRADE, A. T. et al. Produtividade de milho em função da redução do nitrogênio e da utilização de Azospirillum brasilense. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 15, n. 2, p. 229-239, 2016.

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

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

ANTONIOLLI, Z. I. et al. Efeito do cobre na população de bactérias e fungos do solo, na associação micorrízica e no cultivo de mudas de Eucalyptus grandis W. Hill ex Maiden, Pinus elliottii Engelm e Peltophorum dubium (Sprengel) Taubert. **Ciência Florestal**, v. 20, n. 3, p. 419-428, 2010.

ANVISA. **Decreto nº 272,685 de 27 de agosto de 1965**.

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

ALVES, A. C.; MUNDSTOCK, C.; MEDEIROS, J. DE D. Sistema vascular e controle do desenvolvimento de perfilhos em cereais de estação fria. **Brazilian Journal of Botany**, v. 23, n. 1, p. 59-67, 2000.

BANU, N. A.; SINGH, B.; COPELAND, L. **Influence of copper on soil microbial biomass and biodiversity in some NSW soils.**

BASHAN Y, BASHAN LE. Plant growth promoting. In: Hillel D, editor. Encyclopedia of soil in the environment. **Oxford: Elsevier;** 2005. p.103-15.

BENTON J. JR, J. Plant tissue analysis in micronutrients. **Micronutrients in agriculture**, v. 4, p. 477-521, 1991.

BIRÓ, B. et al. Interrelations between Azospirillum and Rhizobium nitrogen-fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa in sterile, AMF-free or normal soil conditions. **Applied Soil Ecology**, v.15, p.159-168, 2000.

BONA, F. D.; DE MORI, C.; WIETHÖLTER, S. Manejo nutricional da cultura do trigo. **Informações Agronômicas, Piracicaba,** v.1, n. 154, p. 1-16, 2016.

BORGES JÚNIOR, M. et al. Valores de referência local e avaliação da contaminação por zinco em solos adjacentes a áreas mineradas no município de Vazante-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. SPE, p. 2883-2893, 2008.

BOUMA, TJEERD J.; NIELSEN, KAI L.; KOUTSTAAL, B. A. S. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. **Plant and soil**, v. 218, n. 1-2, p. 185-196, 2000.

BRUNDRETT, M. C. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. **Plant and Soil,** v.320, p.37 - 77, 2009.

BRYLA, D. R. AND DUNIWAY, J. M. Effects of mycorrhyzal infection on drought tolerance and recovery in safflower and wheat**. Plant and Soil** 197:95–103, 1997.

CAIRES, S. M. de et al. Desenvolvimento de mudas de cedro-rosa em solo contaminado com cobre: tolerância e potencial para fins de fitoestabilização do solo. **Revista Árvore**, v. 35, n. 6, p. 1181-1188, 2011.

CAPRONI, A. L. et al. Fungos micorrízicos arbusculares em estéril revegetado com Acacia mangium, após mineração de bauxita. **Revista Árvore, v.29,** p. 373-381, 2005.

CASANOVAS E. M, BARASSI C. A, SUELDO R. J. *Azospirillum* inoculation mitigates water stress effects in maize seedlings. **Cereal Research Communications,** 30:343-350, 2002.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. Histologia vegetal: Estrutura e função de órgãos vegetativos. 1.ed. Lavras: **UFLA,** 2009. 234p.

CHEN, WEN-MING et al. Metal biosorption capability of Cupriavidus taiwanensis and its effects on heavy metal removal by nodulated Mimosa pudica. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, n. 2-3, p. 364-371, 2008.

COELHO, B. A. et al. Produtividade do milho cultivado em baixa latitude na entressafra inoculado com Azospirillum brasilense com diferentes doses de nitrogênio. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 6, p. 18-28, 2019.

COHEN, A. C. et al. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhacement of ABA levels. **Plant Physiology**, v. 153, n. 1, p. 79-90, 2015.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** SBCS – NRS, f 376, 2016.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO**. Série Histórica das Safras.** 2020.

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

COSTA L, ZUCARELI C, RIEDE C. R. Parcelamento da adubação nitrogenada no desempenho produtivo de genótipo de trigo. **Revista Ciências Agronômicas.** 44:215-24, 2013.

DOBBELAERE, S. et al. Phytostimulatory effect of Azospirillum brasilense wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. **Plant and Soil,** v.212, p.155-164, 1999.

ESTRELA, M. A.; CHAVES, L. H. G.; SILVA, L. N. Fitorremediação como solução para solos contaminados por metais pesados. **Revista Ceuma Perspectivas**, v. 31, n. 1, p. 160-172, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLORENTINO, LIGIANE APARECIDA et al. Sesbania virgata stimulates the occurrence of its microsymbiont in soils but does not inhibit microsymbionts of other species. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 5, p. 667-676, 2009.

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

FREITAS, D. A. et al. Efeito dos metais pesados cobre e cromo no solo: germinação e desenvolvimento inicial de Myracroduon urundeuva. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 1, p. 162-171, 2020.

FUKAMI, J.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Acessing inoculation methods of maize and wheat with Azospirillum brasilense. **AMB Express** v. 6, p. 1-13, 2016.

DELGADO, F.; MARÍN, E.; CALDERÓN, A. Effect of Azospirillum brasilense and Burkholderia unamae Bacteria on Maize Photosynthetic Activity Evaluated Using the Photoacoustic Technique. **International Journal of Thermophysics** v. 37, p. 1-11, 2016.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Inoculation of Brachiaria spp. with the plant growth-promoting bacterium Azospirillum brasilense: an environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 221, p. 125-131, 2016.

KUKKOLA, E.; RAUTIO, P.; HUTTUNEN, S. Stress indications in copper-and nickel-exposed Scots pine seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, v. 43, n. 3, p. 197-210, 2000.

LIMA, KÉSSIA BARRETO et al. Crescimento, acúmulo de nutrientes e fenóis totais de mudas de cedro-australiano (Toona ciliata) inoculadas com fungos micorrízicos. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 4, p. 853-862, 2015.

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

MACHINESKI, O. et al. Crescimento de mudas de peroba rosa em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 567-570, 2009.

MATSUDA, A.; MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Sobrevivência de Bradyrhizobium e Azorhizobium em misturas de solo contaminadas com metais pesados. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 26, n. 1, p. 249-256, 2002.

MICHAUD, AURÉLIA M. et al. Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (Triticum turgidum durum L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. **Plant and Soil**, v. 298, n. 1, p. 99-111, 2008.

MORAIS, T. P. de et al. Aspectos morfofisiológicos de plantas de milho e bioquímico do solo em resposta à adubação nitrogenada e à inoculação com Azospirillum brasilense. **Revista Ceres**, v. 62, n. 6, p. 589-596, 2015.

MEDEIROS, E. V. et al. Tolerância de bactérias fixadoras de nitrogênio provenientes de municípios do Rio Grande do Norte à temperatura e salinidade. **Revista de Biologia e ciências da terra,** v. 7, n. 2, 2007.

NOVAKOWISKI, JAQUELINE HUZAR et al. Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de Azospirillum brasilense na cultura do milho Residual effect of nitrogen fertilization and Azospirillum brasilense inoculation in the maize culture. **Semina: Ciências Agrárias,** v. 32, n. suplemento 1, p. 1687-1698, 2011.

NUMOTO, A. Y. et al. Agronomic performance and sweet corn quality as a function of inoculant doses (Azospirillum brasilense) and nitrogen fertilization management in summer harvest. **Bragantia**, n. AHEAD, 2019.

PANZIERA, A. G. et al. Potencial de fitoextração de cobre por aveia preta em área de vinhedos no sul do brasil. **Revista engenharia na agricultura-reveng**, v. 26, n. 6, p. 565-573, 2018.

PEREIRA, M. P. et al. Lead tolerance during germination and early growth of the Brazilian peppertree and the morpho-physiological modifications. **Revista de Ciências Agrárias,** v.56, p.72-79, 2013.

QUADROS, P. D. DE et al. Desempenho agronômico a campo de híbridos de milho inoculados com Azospirillum. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 209-218, 2014.

RADWAN, T. E. E.; MOHAMED, Z. K.; REIS, V. M. Efeito da inoculação de *Azospirillum* e *Herbaspirillum* na produção de compostos indólicos em plântulas de milho e arroz. **Pesq Agropec Bras**. 2004; 39:987-94.

RAMPIM, LEANDRO et al. Qualidade fisiológica de sementes de três cultivares de trigo submetidas à inoculação e diferentes tratamentos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 678-685, 2012.

ROESCH, L. F.; CAMARGO, F. O.; SELBACH, P. A.; SÁ, E. S. Reinoculação de bactérias diazotróficas aumentando o crescimento de plantas de trigo**. Ciência Rural,** v.35, p.1201-1204, 2005.

ROSA, D. J. Eficiência e estabilização de fungos micorrízicos pré-inoculados em porta-enxertos de videira no cultivo em casa de vegetação e a campo, com e sem toxicidade por cobre. **Universidade Federal de Santa Catarina**. Tese de Doutorado, 2019.

TSAVKELOVA, E. A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T. A.; NETRUSOV, A. I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology,** v.42, p.117-126, 2006.

SANTOS, G. C. G. dos et al. Vegetable species for phytoextraction of boron, copper, lead, manganese and zinc from contaminated soil. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 6, p. 713-719, 2010.

SANTOS, H. P. et al. Comportamento fisiológico de plantas de aveia (Avena strigosa) em solos com excesso de cobre. **Embrapa Uva e Vinho-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2004.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. DOS S.; SILVEIRA, A. P. D. da. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em trigo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, n. 11, p. 1593-1600, 2007.

SILVA SANTOS, J. K.; SANTANA, M. D. F.; LARA, T. S. Responsividade de plantas de milho à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares da rizosfera de ipê amarelo. **Revista Agroecossistemas**, v. 10, n. 1, p. 253-264, 2018.

SILVA, T. J. et al. Fitorremediação de solos contaminados com metais: panorama atual e perspectivas de uso de espécies florestais. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 1, 2019.

SMITH, S. E.; READ, D. J. Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press**,** 2008.
SOARES C. R. F. S., SIQUEIRA J. O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. **Bio. and Fertility of Soils**, 44, 833-841, 2008.

SOUZA, F. A.; SCHLEMPER, T. R.; STÜRMER, S. L. A importância da tecnologia de inoculação de fungos micorrízicos para a sustentabilidade na olericultura. **Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2017.

STEFFEN, R. B. et al. Ação do óleo essencial de eucalipto na micorrização e no estabelecimento de Eucalyptus grandis em solo contaminado por cobre. **Pesquisa Florestal Brasileira,** v. 31, p. 245-255, 2011

TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **The Journal of Ecology**, p. 995-1001, 1975.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Production, supply and distribution.** 2020.

UZEL, A.; OZDEMIR, G. Metal biosorption capacity of the organic solvent tolerant Pseudomonas fluorescens TEM08. **Bioresource technology**, v. 100, n. 2, p. 542-548, 2009.

VALÉRIO, I. P. et al. Fatores relacionados à produção e desenvolvimento de afilhos em trigo Factors related to tiller formation and development in wheat. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 30, n. suplemento 1, p. 1207-1218, 2009.

WANG, J.; MAO, H.; ZHAO, H.; HUANG, D.; WANG, Z. Different increases in maize and wheat grain zinc concentrations caused by soil and foliar applications of zinc in Loess Plateau, China. **Field Crops Res.** 2012; 135:89-96.

YRUELA, I. Copper in plants**. Brazilian Journal of Plant Physiology,** v. 17, n. 1, p. 145–156, 2005.

ZHAO, R.; GUO, W.; BI, N.; GUO, J.; WANG, L. ZHAO, J.; ZHANG, J. Arbuscular mycorrhizal fungi affect the growth, nutrient uptake and water status of maize (Zea mays L.) grown in two types of coal mine spoils under drought stress**. Applied Soil Ecology,** v.88, p.41 - 49, 2015.

6 DISCUSSÃO GERAL

O teor de argila é considerado um dos principais fatores responssáveis pela variação na adsorção de metais nos horizontes dos solos, formando complexos de esfera interna impedindo a absorção de cobre pelas plantas (SILVEIRA et al., 2002). O aumento na dose de cobre induz redução na altura, comprimento e volume de raiz de plantas de trigo em todas as texturas estudadas, sobretudo em solos mais arenosos, com 17,5 e 35% de argila, que possibilitam maior teor de cobre na raiz e grão de trigo quando comparado a texturas mais argilosas 52,5 e 70%. Assim, solos com texturas mais arenosas possibilitam maior potencial de fitotoxidez por cobre em plantas de trigo. A mobilidade do cobre no solo e a capacidade de absorção pelas plantas estão diretamente relacionadas ao teor de argila no solo, sendo geralmente maior em solos com baixo teor de argila (MEDINA et al., 2018).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) estabelecem relação simbiótica mutualística com cerca de 80% das espécies de plantas (SMITH e READ, 2008), contudo, há controversas em relação à especificidade tanto da espécie de FMAs quanto do hospedeiro e da associação simbiótica em ambientes com excesso de metais pesados no solo (SANTANA et al., 2015). A inoculação com os isolados micorrízicos *A. Colombiana, G. margarita* e *R. clarus* resultaram em maior teor de cobre na raiz e consequentemente redução no teor do metal na parte aérea e grão de trigo quando comparado a testemunha em solo contaminado com cobre. Plantas associadas com fungos micorrízicos podem reter estes metais nas raízes e reduzir a translocação para a parte aérea (CHRISTIE et al., 2004). Dessa forma, os fungos micorrízicos atuam na proteção da toxidade de metais às plantas (SOARES e SIQUEIRA, 2008), pois possuem a capacidade de compartimentalizar o cobre nos esporos, reduzindo sua translocação para outros compartimentos das plantas (CORNEJO et al., 2013).

Conforme os resultados dos trabalhos 1 e 2, realizou-se o trabalho 3, promovendo a coinoculação entre os fungos micorrízicos arbusculares e a bactéria promotora de crescimento de plantas *A. brasilense* em plantas de trigo, cultivadas em solo contaminado com cobre. Foi constatado que há efeito antagônico da coinoculação de *A. brasilense* na colonização do trigo pelos fungos micorrízicos *A. Colombiana e G. Margarita*, e que solos contaminados com cobre exercem efeito negativo sobre a inoculação de fungos micorrízicos nas raízes do trigo, porém mesmo assim ficou evidente os benefícios gerados às plantas inoculadas com fungos e bactérias. Os fungos micorrízicos estabelecem relação

mutualística entre a raiz da planta hospedeira e o micélio (BRUDRETT, 2009), aumentando o comprimento, volume e massa seca de raiz, possibilitando maior absorção de água e nutrientes pelas plantas (MACHINESKI et al., 2009; ZHAO et al., 2015; AGUEGUE et al., 2017; SILVA et al., 2018). O *Azospirillum* por sua vez coloniza a rizosfera e tecidos internos, produzindo fito-hormônios e substâncias que levam à proteção e aumento do sistema radicular, e consequentemente, maior absorção de água e nutrientes (COHEN et al., 2015).

Portanto orienta-se o desenvolvimento de estudos que possam selecionar outras espécies de fungos micorrízicos e bactérias com potencial de promover o desenvolvimento do trigo em solos contaminados com cobre.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A textura de solo exerce efeito na disponibilidade de cobre, sendo que, a parte aérea e o sistema radicular de trigo são mais afetados em texturas mais arenosas em áreas contaminadas. Solos com textura 17,5% de argila proporcionam maior bioconcentração e bioacumulação de cobre na cultura do trigo.

A inoculação dos isolados *Acaulospora colombiana* e *Gigaspora margarita* proporciona acréscimo na altura, comprimento de raiz, área superficial específica de plantas de trigo. Os fungos micorrízicos possibilitam maior teor de cobre na raiz e consequentemente menor mobilização do metal para a parte aérea e grão de trigo.

A coinoculação *A. colombiana* e *A. brasilense* proporciona maior teor de cobre na parte aérea do trigo. No entanto há efeito antagônico da coinoculação do *A. brasilense* na colonização das raízes do trigo por fungos micorrízicos do gênero *A. colombiana* e *G. margarita.* Porém, a bactéria *A. brasilense* é eficiente para promover a altura de plantas, o número de perfilhos e a massa seca da parte aérea do trigo. Ainda há controvérsias quanto a coinoculação de fungos e bactérias em ambientes contaminados com cobre, tornando-se necessária a elaboração de novos estudos com esses componentes, a fim de encontrar espécies de fungos e bactérias com potencial de maximizar a produtividade das culturas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREAZZA, R. et al. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 127-136, 2014.

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

BELTRANO, J.; RONCO, M. G.; ARANGO, M. C. Soil drying and rewatering applied at three grain developmental stages affect differentially growth and grain protein deposition in wheat (Triticum aestivum L.). Brazilian Journal of Plant Physiology, v. 18, n. 2, p. 341-350, 2006.

BELLION, M. et al. Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. FEMS microbiology letters, v. 254, n. 2, p. 173-181, 2006.

BERRUTI, Andrea et al. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: let's benefit from past successes. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1559, 2016.

BRUM, A. L.; HECK, C. R. A economia do trigo no Rio Grande do Sul : breve histórico do cereal na economia do estado. p. 29–44, 2005.

BRUNETTO, G. et al. Mobility of copper and zinc fractions in fungicide-amended vineyard sandy soils. Archives of Agronomy and Soil Science, v. 60, n. 5, p. 609-624, 2014.

CABRAL, Lucélia et al. Retention of heavy metals by arbuscular mycorrhizal fungi mycelium. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 25-29, 2010.

CAMARGO, O. A. de. **Micronutrientes no solo**. In: Simpósio sobre micronutrientes na agricultura, 1., 1988, Jaboticabal. Anais: UNESP, 1988. p. 103- 120.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221 p.

CHU, E. Y.; MÖLLER, M. de R. F.; CARVALHO, J. G. de. Efeitos da inoculação micorrízica em mudas de gravioleira em solo fumigado e não fumigado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 36, n. 4, p. 671-680, 2001.

COHEN, A. C. et al. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhacement of ABA levels. **Plant Physiology**, v. 153, n. 1, p. 79-90, 2015.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Análise mensal: Trigo**. Brasília, 2021

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. **Análise mensal:** Fevereiro de 2019 1. mercado internacional. 2019.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Séries históricas de área, produção e produtividade de grãos: Safra 2013 de trigo**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acessado em: 25 Ago. 2020.

CONAMA. **Resolução n° 420. de 28 de dezembro de 2009**. Acesso em:10 fevereiro de 2019.

COSTA, L.; ZUCARELI, C.; RIEDE, C. R. Parcelamento da adubação nitrogenada no desempenho produtivo de genótipos de trigo. **Revista Ciência Agronômica,** v. 44, n. 2, p. 215-224, 2013.

CRISTINO, E. M. et al. Fungos micorrízicos arbusculares em cafeeiro (Coffea arabica l) cultivados em diferentes altitudes e faces de exposição ao sol. **X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 2019.

CUNDY, A. B. et al. Developing principles of sustainability and stakeholder engagement for " gentle " remediation approaches : The European context. **Journal of Environmental Management**, v. 129, p. 283–291, 2013.

DÖBEREINER, J. A importância da fixação biológica de nitrogênio para a agricultura sustentável. **Biotecnologia Ciência**, p. 2-3, 1997.

ELLIS, B. G. Adsorption reactions of micronutrients in soil. **Micronutrients in agriculture**, p. 59-78, 1972.

EMBRAPA. Empresa brasileira de pesquisa Agropecuária. **História do trigo no Brasil.** Disponível em:< http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=91&cod_pai=70> Acesso em: 20 de Maio de 2020.

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

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

FREO, J. D.; ROSSO, N. D.; MORAES, L. B. D.; DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C.; GUTKOSKI, L. C. Physicochemical properties and silicon content in wheat flour treated with diatomaceous earth and conventionally stored. **Journal of Stored Products Research**, v.47, p.316-320, 2011.

FUKAMI, J.; CEREZINI, P.; HUNGRIA, M. Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. AMB Express, v. 8, n. 1, p. 73, 2018.

GABOS, M. B. et al. Uso da matéria orgânica como mitigadora de solo multicontaminado e do girassol como fitoextratora. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 12, p. 1298-1306, 2011.

HAQUE, I; ADUAYI, E. A.; SIBANDA, S. Copper in soils, plants, and ruminant animal

nutrition with special reference to sub- Saharan Africa. **Journal of Plant Nutrition,** New York, v. 16, n. 11, p. 2149-2212, 1993.

HUGEN, C. et al. Teores de Cu e Zn em perfis de solos de diferentes litologias em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental-Agriambi**, v. 17, n. 6, 2013.

JORGE, L. A de C.; SILVA, D. J da C. B. **Safira: Manual de utilização**. Embrapa Instrumentação-Livro científico (ALICE), 2010.

LINDON, F. C.; HENRIQUES, F. S. Limiting step on photosynthesis of Rice plants treated whith varying copper levels. **Journal of Plant Physiology,** Stuttgart, v. 138, p. 115-118, 1991.

MACKIE, K. A.; MÜLLER, T.; KANDELER, E. Remediation of copper in vineyards e A mini review. **Environmental Pollution**, v. 167, p. 16–26, 2012.

MADEIRA, R. A. V. **Caracterização tecnológida de linhagens de Trigo desenvolvidas para o cerrado mineiro.** Lavras, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências do Alimentos) - Programa de Pós Graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras.

MARSCHINER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. San Diego: Academic, 1995. 889 p.

MARTINS, R. M. S.; MELLONI, R.; MELLONI, E. G. P. Crescimento micelial de fungos micorrízicos arbusculares e formação de micorriza em solo contaminado por cádmio. **Scientia agraria**, v. 18, n. 3, p. 48-60, 2017.

MCBRIDE, M.; SAUVE, S.; HENDERSHOT, W. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. **European Journal of Soil Science**, v. 48, n. 2, p. 337-346, 1997.

MIOTTO, A. et al. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. Plant and Soil, v. 374, n. 1-2, p. 593-610, 2014.

MILLÉO, M. V. R.; CRISTÓFOLI, I. Avaliação da eficiência agronômica da inoculação de Azospirillum sp. na cultura do milho. **Scientia Agraria**, v. 17, n. 3, p. 14-23, 2016.

MOCQUOT, B.; VANGRONSVELD, J.; CLIJSTERS, H.; MENCH, M. Cooper toxicity in young maize (Zea nays L.) plants: effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzime activities. **Plant and Soil,** The Hague, v. 182, n. 2, p. 287-300, 1996.

MOREIRA, D. A. et al. Estudo da adsorção simultânea de cobre, níquel e zinco por vermicomposto utilizando planejamento fatorial. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 9, n. 2, 2012.

PEDRAZA, R. O. Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria. International journal of food microbiology, v. 125, n. 1, p. 25-35, 2008.

REPKE, R. A. et al. Eficiência da Azospirillum brasilense combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, p. 214-226, 2013.

ROSA, D. J. et al. Alterações fisiológicas em videira (Vitis sp.) cultivada em solo com acúmulo de Cu e fitoproteção com fungos micorrízicos arbusculares. 2015.

SANTOS, L. C. **Efeito do cobre na população de bactérias e fungos do solo, associação ectomicorrízica e no desenvolvimento de mudas de Eucalipto e Canafístula.** 88 f, Dissertação (Mestrado em Ciências do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2006.

SCHAEFER, P. E. Inoculação com *Azospirillum brasilense* em milho na integração lavoura-pecuária e a relação com as doses de nitrogênio e umidade do solo e ph s em solução. **Título: Mestrado em Produção Vegetal - Universidade Federal de Santa Maria**, 2016.

SCHMIDT, D. A. M. et al. Variabilidade genética em trigos brasileiros a partir de caracteres componentes da qualidade industrial e produção de grãos. **Bragantia**, v.68, p.43-52, 2009.

SETHY, S.K.; GHOSH, S. **Effect of heavy metals on germination of seeds**. J. Nat. Sci. Biol. Med., v. 4, n. 2, p. 272-275, jul.-dec., 2013.

SILVA, F. C. da (Ed. Técnico). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2 ed. rer. ampl. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627 p.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. London: Academic Press, 2008.

SOUZA, E. M. de. et al. Does the nitrogen application associated with Azospirillum brasilense inoculation influence corn nutrition and yield?. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 1, p. 53-59, 2019.

SPATAFORA, J. W. et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. **Mycologia**, v. 108, n. 5, p. 1028-1046, 2016.

SPATZAL, T. et al. Nitrogenase FeMoco investigated by spatially resolved anomalous dispersion refinement. Nature communications, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2016.

TANGAHU, B. V. et al. A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2011, 2011.

VALADARES, R. B. S.; MESCOLOTTI, D, L. C.; CARDOSO, E. J. B. N. Micorrízas. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.

VINHAL-FREITAS, I. C.; RODRIGUES, M. B. Fixação biológica do nitrogênio na cultura do milho. Agropecuária Técnica, v. 31, n. 2, p. 143-154, 2010.

WANG, J. et al. Different increases in maize and wheat grain zinc concentrations caused by soil and foliar applications of zinc in Loess Plateau , China. **Field Crops Research**, v. 135, p. 89–96, 2012.

MELO, G. W. B. et al. A calagem pode mitigar os efeitos da fitotoxicidade do cobre em aveia branca (Avena sativa L.)?. In: **Embrapa Uva e Vinho-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 34., 2013, Costão do Santinho, SC. Ciência do solo: para quê e para quem? Anais... Costão do Santinho: SBCS, 2013., 2013.

ZANCHETA, A. C. F. et al. Fitoextração de cobre por espécies de plantas cultivadas em solução nutritiva. **Bragantia [online]**. 2011, vol. 70, n. 4. 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed; 2017, 888p.