

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

Daniel Erison Fontanive

**BIOCARVÃO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVADO EM
SOLO CONTAMINADO COM COBRE**

Frederico Westphalen, RS
2023

Daniel Erison Fontanive

**BIOCARVÃO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVADO 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 a obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.**

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Ferreira da Silva

Frederico Westphalen, RS
2023

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

Fontanive, Daniel Erison
BIOCÁRVÃO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVADO EM
SOLO CONTAMINADO COM COBRE / Daniel Erison Fontanive.-
2023.
106 p.; 30 cm

Orientador: Rodrigo Ferreira da Silva
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Campus de Frederico Westphalen, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, RS, 2023

1. Biochar 2. Micorrizas arbusculares 3. Feijão comum
4. Remediação I. Silva, Rodrigo Ferreira da II. Título.

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

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

Daniel Erison Fontanive

**BIOCARVÃO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO
DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVADO 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 a obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental**.

Aprovado em 24 de fevereiro de 2023.

Rodrigo Ferreira da Silva, Dr. (UFSM)
Orientador

Danni Maisa da Silva, Dr^a. (UERGS)

Felipe Bonini da Luz, Dr. (UFSM)

Frederico Westphalen, RS
2023

DEDICATÓRIA

À minha família, meus pais, irmãos, cunhados e sobrinhos, à minha noiva pelo apoio, carinho e incentivo em toda a jornada.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por acompanhar e guiar meu caminho à todo instante.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em especial ao *Campus* Frederico Westphalen - RS e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (PPGCTA) pela oportunidade.

Aos meus pais Adelmo e Ilene, meus irmãos Samir e Juliana, cunhados Marilene e Everton, sobrinhos Davi, Artur, Gabriel, Lucas e Luiza por todo carinho e atenção e por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando.

À minha noiva Rafaela pelo incentivo, auxílio, carinho e atenção.

Ao meu orientador e amigo, professor Dr. Rodrigo pela oportunidade e ensinamentos.

Aos professores, Dr. Clovis e Dr. Genésio pelos ensinamentos e disponibilização de equipamentos e laboratórios para as avaliações.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Danni e Dr. Felipe pela disponibilidade e ótimas contribuições.

Aos técnicos laboratoriais, Andrea, Lucindo e Marcela pelo auxílio na realização das análises.

Aos amigos e colegas de laboratório do grupo de Biologia e Microbiologia do solo pela contribuição na realização desta pesquisa: Domenico, Daiane, Eduardo, Sinara, Juliano B., Juliano S., Ana Paula, Ketoni, Rafaela e Inês.

Aos demais amigos, antigos colegas e professores que também fazem parte desta conquista.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa.

Muito obrigado!

RESUMO

BIOCARVÃO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVADO EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

AUTOR: Daniel Erison Fontanive
ORIENTADOR: Rodrigo Ferreira da Silva

A presença de cobre em excesso no solo pode ser tóxica para as plantas e outros organismos. Neste caso, buscam-se alternativas de remediação de áreas contaminadas pelo metal, na qual o biocarvão pode atuar como adsorvente de cobre no solo, bem como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) formam associação simbiótica com plantas e possuem potencial de fitoestabilização deste metal nas raízes. Desse modo, foram desenvolvidos três estudos científicos para a elucidação das hipóteses de que o biocarvão reduz a disponibilidade de cobre e promove o desenvolvimento do feijão comum em solo contaminado e a associação simbiótica com as micorrizas resulta em menor translocação do metal e redução da toxicidade às plantas. Portanto, na primeira pesquisa objetivou-se verificar os efeitos da adição de biocarvão em solo contaminado com cobre e o desenvolvimento de feijão comum; no segundo estudo objetivou-se avaliar o uso de FMAs para o desenvolvimento e acúmulo de cobre em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivado em solo contaminado com cobre e; no terceiro objetivou-se determinar o efeito da aplicação de biocarvão combinado com o uso de fungos micorrízicos arbusculares no cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. em solo contaminado com cobre. Os resultados evidenciaram que o biocarvão exerceu efeito positivo para a redução da disponibilidade de cobre em solo contaminado, além da diminuição do teor do metal no tecido vegetal de *P. vulgaris* L. Assim como a porcentagem de germinação de sementes, o desenvolvimento vegetal geral e a produtividade foram maiores mesmo em solo contaminado com cobre. A inoculação com os isolados *Rizoglyphus clarum* e *Scutellospora pellucida* promoveu aumento no desenvolvimento e produção do feijão cultivado em solo contaminado com cobre e também reduziu a disponibilidade do metal. A espécie *S. pellucida* proporciona menor translocação do metal para a parte aérea das plantas. O uso combinado de biocarvão e fungos micorrízicos arbusculares resulta em aumento na altura, porcentagem de germinação de sementes, massa seca aérea e de raízes e produtividade de grãos de plantas de feijão comum cultivado em solo contaminado, enquanto o teor de cobre disponível no solo, na raiz, na parte aérea e no grão de feijão é menor. A translocação de cobre para a parte aérea de *P. vulgaris* também foi menor com a utilização conjunta de biocarvão e FMAs.

Palavras-chave: Biochar. Micorrizas arbusculares. Remediação. Feijão comum.

ABSTRACT

BIOCHAR AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN THE DEVELOPMENT OF *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVATED IN SOIL CONTAMINATED WITH COPPER

AUTHOR: Daniel Erison Fontanive
ADVISOR: Rodrigo Ferreira da Silva

The presence of excess copper in the soil can be toxic to plants and other organisms. In this case, alternatives for remediation of areas contaminated by the metal are being sought, in which biochar can act as a copper adsorbent in the soil, as well as arbuscular mycorrhizal fungi (AMFs) forming a symbiotic association with plants and having the potential for phytostabilization of this metal in the roots. Thus, three scientific studies were developed to elucidate the hypotheses that biochar reduces copper availability and promotes the development of common bean in contaminated soil and the symbiotic association with mycorrhizae results in less metal translocation and reduced toxicity to plants. Therefore, the first research aimed to verify the effects of adding biochar in soil contaminated with copper and the development of common bean; the second study aimed to evaluate the use of AMFs for the development and accumulation of copper in *Phaseolus vulgaris* L. plants cultivated in soil contaminated with copper and; the third aimed to determine the effect of applying biochar combined with the use of arbuscular mycorrhizal fungi in the cultivation of *Phaseolus vulgaris* L. in soil contaminated with copper. The results showed that biochar had a positive effect on the reduction of copper availability in contaminated soil, in addition to the decrease in the metal content in the plant tissue of *P. vulgaris* L. As well as the percentage of seed germination, overall plant development and productivity were higher even in soil contaminated with copper. Inoculation with the isolates *Rizogloium clarum* and *Scutellospora pellucida* promoted an increase in the development and production of beans grown in soil contaminated with copper and also reduced the availability of the metal. The species *S. pellucida* provides less translocation of the metal to the aerial part of the plants. The combined use of biochar and arbuscular mycorrhizal fungi results in an increase in height, percentage of seed germination, aerial and root dry mass and grain yield of common bean plants grown in contaminated soil, while the available copper content in the soil, in the root, in the aerial part and in the bean grain it is smaller. Copper translocation to the aerial part of *P. vulgaris* was also lower with the combined use of biochar and AMFs.

Keywords: Biochar. Arbuscular mycorrhizae. Remediation. Common bean.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 COBRE	15
2.2 BIOCÁRVÃO COMO ESTRATÉGIA DE REMEDIAÇÃO DOS SOLOS	17
2.3 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES	18
2.4 FEIJÃO COMUM (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	20
3 CAPÍTULO 1: BIOCÁRVÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DE <i>Phaseolus vulgaris</i> L. EM SOLO CONTAMINADO POR COBRE	22
3.1 RESUMO	22
3.2 ABSTRACT	22
3.3 INTRODUÇÃO	23
3.4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.4.1 Local	24
3.4.2 Delineamento	25
3.4.3 Instalação e condução do experimento	25
3.4.3.1 Casa de vegetação	25
3.4.3.2 Testes de germinação	27
3.4.4 Avaliações	27
3.4.4.1 Avaliações morfológicas	27
3.4.4.1.1 <i>Altura de plantas (AP)</i>	27
3.4.4.1.2 <i>Massa seca da parte aérea (MSPA)</i>	28
3.4.4.1.3 <i>Massa seca de raízes (MSR)</i>	28
3.4.4.1.4 <i>Número de vagens por planta (NVP)</i>	28
3.4.4.1.5 <i>Número de grãos por vagem (NGV)</i>	28
3.4.4.1.6 <i>Peso de mil grãos (PMG)</i>	28
3.4.4.1.7 <i>Produtividade de grãos (PG)</i>	29
3.4.4.1.8 <i>Volume radicular (VR)</i>	29
3.4.4.1.9 <i>Área superficial específica de raízes (ASE)</i>	29
3.4.4.2 Porcentagem de germinação de sementes (GS)	29
3.4.4.3 Parâmetros da clorofila	29

3.4.4.4 Cobre no solo e no tecido vegetal	30
3.4.4.5 Fatores de translocação (FT) e bioconcentração (FBC)	30
3.4.5 Análise estatística	30
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
3.6 CONCLUSÃO	43
3.7 REFERÊNCIAS	44
4 CAPÍTULO 2: INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM <i>Phaseolus vulgaris</i> L. CULTIVADO EM SOLO CONTAMINADO POR COBRE	52
4.1 RESUMO	52
4.2 ABSTRACT	52
4.3 INTRODUÇÃO	53
4.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	54
4.4.1 Local.....	54
4.4.2 Delineamento	55
4.4.3 Instalação e condução do experimento	55
4.4.3.1 Casa de vegetação.....	55
4.4.3.2 Testes de germinação.....	56
4.4.4 Avaliações	56
4.4.4.1 Avaliações morfológicas	56
4.4.4.2 Colonização micorrízica (CM)	57
4.4.4.3 Germinação de sementes (GS).....	57
4.4.4.4 Parâmetros da clorofila	57
4.4.4.5 Cobre no solo e no tecido vegetal	57
4.4.4.6 Fatores de translocação (FT) e de bioconcentração (FBC)	57
4.4.5 Análise estatística	58
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
4.6 CONCLUSÃO	68
4.7 REFERÊNCIAS	69
5 CAPÍTULO 3: BIOCÁRVÃO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO CULTIVO DE <i>Phaseolus vulgaris</i> L. EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE	74
5.1 RESUMO	74
5.2 ABSTRACT	74
5.3 INTRODUÇÃO	75
5.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	76
5.4.1 Local.....	76

5.4.2 Delineamento	77
5.4.3 Instalação e condução do experimento	77
5.4.4 Avaliações	79
5.4.4.1 Avaliações morfológicas	79
5.4.4.2 Colonização micorrízica (CM)	79
5.4.4.3 Porcentagem de germinação de sementes (GS)	79
5.4.4.4 Teor de cobre disponível no solo	79
5.4.4.5 Teor de cobre no tecido vegetal	79
5.4.4.6 Fatores de translocação (FT) e bioconcentração (FBC)	80
5.4.5 Análise estatística	80
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
5.6 CONCLUSÃO	88
5.7 REFERÊNCIAS	88
6 DISCUSSÃO GERAL	94
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
REFERÊNCIAS	97

1 INTRODUÇÃO GERAL

O cobre (Cu) é um elemento químico considerado um metal pesado de ocorrência natural no solo, além disso é um micronutriente para as plantas desempenhando papel essencial na nutrição e metabolismo vegetal, fazendo parte da estrutura enzimática (MARTINS *et al.*, 2011; DECHEN e NACHTIGALL, 2007).

A principal fonte de Cu no solo é decorrente da intemperização do próprio material de origem (KABATA e PENDIAS, 2010), porém, nos últimos anos têm sido verificado o aumento dos níveis de cobre em algumas áreas, devido a aplicação de insumos cúpricos (GONÇALVES *et al.*, 2019), o que pode causar toxidez no ambiente e potencial risco para humanos e animais, devido a capacidade de bioacumulação (MATEOS-NARANJO *et al.*, 2013).

O excesso de cobre absorvido pelas plantas pode ocasionar alterações estruturais, morfológicas e fisiológicas, causando danos ao sistema radicular, inibição da absorção de nutrientes, redução da taxa fotossintética e desenvolvimento vegetal (LOURENZI *et al.*, 2019; YRUELA, 2005; CAMBROLLÉ *et al.*, 2015). Além disso, pode levar a estresse oxidativo nas plantas (LYUBENOVA *et al.*, 2015; THOUNAOJAM *et al.*, 2012). De acordo com Taiz e Zeiger (2002), o Cu pode produzir radicais livres que danificam as membranas celulares por oxidação. Nas raízes, os sintomas tóxicos podem ser observados através do encurtamento, engrossamento e o aumento de raízes laterais (MARQUES *et al.*, 2018; YRUELA, 2005), ocasionando diminuição de absorção de água e nutrientes e consequentemente inibição do crescimento da parte aérea e aumento da biomassa das raízes e dos ramos (KELLER *et al.*, 2015).

O biocarvão surge como alternativa para amenizar o efeito tóxico de cobre em áreas contaminadas (NOVAK *et al.*, 2009). Esse material resulta da conversão térmica da biomassa orgânica através do processo de pirólise sob condições de baixa concentração de oxigênio (ONI, OZIEGBE e OLAWOLE, 2019), possui potencial remediador de metais pesados no solo através da adsorção química por grupos funcionais de superfície (XIA *et al.*, 2019), além disso, pode produzir um efeito eletrostático fraco, o que leva à fisissorção (GOMEZ-EYLES e GHOSH, 2018), também altera as condições de aeração e umidade do solo, influenciando sobre o potencial redox, diminuindo a toxicidade de metais pesados (NOVAK *et al.*, 2009). Também há a possibilidade de aumento do pH, visto que o material é alcalino, o que indiretamente reduz a biodisponibilidade de metais pesados (HUANG, Peng, *et al.*, 2018), promovendo a remediação de áreas contaminadas.

Outra possibilidade de remediação de solos contaminados por Cu é por meio do uso de microrganismos, como os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), que têm a capacidade de formar associação simbiótica com cerca de 80% das plantas cultivadas (ZHANG Fengge *et al.*, 2019). A associação com plantas é realizada através da colonização inter e intracelular do córtex da raiz formando arbúsculos, que são estruturas típicas do fungo e altamente ramificadas, também ocorre formação de hifas enroladas e/ou ramificadas, vesícula (hifas com dilatações terminais) e micélio extra radicular que cresce solo adentro além da rizosfera (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Os fungos micorrízicos melhoram as propriedades físico-químicas do solo e podem atuar como filtros para o bloqueio de xenobióticos em seu micélio (BERBARA, SOUZA, FONSECA, 2006; DAYNES *et al.*, 2013).

Apesar da contaminação inorgânica afetar negativamente alguns processos do ciclo de vida dos FMAs, tem-se verificado a ocorrência de vários isolados fúngicos aparentemente adaptados ao excesso de metais pesados (RIAZ *et al.*, 2021). Nesse contexto, as micorrizas arbusculares são relatadas em associação com raízes de plantas em áreas contaminadas por metais (DE MELO *et al.*, 2015; KODRE *et al.*, 2017) e são sugeridas para otimização do desenvolvimento e eficiência das plantas sob recursos limitados (HUANG, Xeniaoch, *et al.*, 2018; SCORIZA, CORREIRA, DA SILVA, 2016). Portanto, as micorrizas atuam como barreira física e funcionam como bacia (MA *et al.*, 2019) e imobilizam metais pesados nas raízes das plantas (fitoestabilização) (MIRANSARI, 2011; SCHNEIDER, *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2014).

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta anual, pertencente à classe das dicotiledôneas, da família das *Fabaceae*. Com alto teor de proteínas na semente, o feijão comum é um dos principais alimentos da dieta alimentar da população brasileira e seu grande consumo se destaca devido à importância nutricional, social e econômica (LANDAU E MOURA, 2020). No Brasil, a produção de feijão é realizada por diversos tipos de produtores, em diversas regiões do país, utilizando diferentes níveis tecnológicos, no entanto, o destaque é a agricultura familiar que é responsável por grande parcela da produção dessa cultura no país (SILVA E WANDER, 2013).

Em relação ao cultivo do feijão em áreas com níveis elevados de cobre, Kabata e Pendias (2010), descrevem que níveis entre 20 e 100 mg kg⁻¹ de cobre nas plantas são considerados tóxicos, sendo que para feijão comum o limite máximo tolerado (LMT) de Cu nos grãos destinados a alimentação é de 10 mg kg⁻¹ (BRASIL, 2022). Entretanto, estudos apontam que *Phaseolus vulgaris* L. pode apresentar um nível elevado de resistência se cultivado em solos com diferentes formas de contaminação, inclusive por metais pesados, fato

esse que é atribuído à seletividade na absorção de nutrientes (LEITE E ZAMPIERON, 2012), sendo um diferencial positivo para sua utilização como planta teste em solo contaminado por cobre.

Nesse sentido, as hipóteses desenvolvidas para esse estudo são: (i) o biocarvão reduz a disponibilidade de cobre e promove o desenvolvimento do feijão comum em solo contaminado com Cu; (ii) o feijão comum micorrizado apresenta menor translocação do Cu que resulta na redução da toxicidade às plantas;

Este trabalho teve como objetivo possibilitar a utilização de biocarvão e fungos micorrízicos arbusculares para o cultivo de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em solo contaminado com cobre.

Para a elucidação das hipóteses e atendimento do objetivo deste trabalho foram realizados três experimentos: (i) estudo do uso do biocarvão em solo contaminado com cobre e cultivado por *Phaseolus vulgaris* L.; (ii) utilização de fungos micorrízicos arbusculares para o crescimento e acúmulo de cobre em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivado em solo contaminado com cobre; (iii) utilização combinada de biocarvão e fungos micorrízicos arbusculares para o desenvolvimento de *Phaseolus vulgaris* L. em solo contaminado com cobre.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 COBRE

Para as plantas e outros organismos vivos, o Cu é considerado um micronutriente essencial indispensável para diversos processos enzimáticos importantes para o metabolismo celular, seja como ativador enzimático ou formando parte das mesmas (DECHEN e NACHTIGALL, 2007). Esse metal intervém em processos de oxirredução, participa do metabolismo de nitrogênio e glicídio, também influi na fixação do nitrogênio em leguminosas e atua no equilíbrio de bioelementos que regulam a transpiração da planta (FAGAN *et al.*, 2016). Além disso, atua como catalisador de reações bioquímicas no metabolismo de carboidratos, na síntese de clorofila e na constituição de proteínas em vegetais (TAIZ *et al.*, 2017). Apesar dos diversos benefícios para o ciclo de vida das plantas, quando presente em elevadas concentrações, o Cu pode causar toxidez no ambiente e danos na cadeia alimentar ocasionada pelo efeito de bioacumulação (YRUELA, 2005).

A forma química do cobre é Cu^{2+} , a qual é, em geral, pouco móvel ou disponível na solução do solo, encontra-se em sua maioria retida por ligações físicas e químicas de alta energia nas frações orgânica e inorgânica do solo. Na sua fase trocável é considerado biodisponível no solo (KABATA PENDIAS, 2010). A disponibilidade depende de vários fatores como o pH, temperatura, força iônica, concentração e peso molecular das partículas orgânicas do solo (AYDIN, BULUT e YERLIKAYA, 2008).

Os metais pesados, por definição, referem-se aos elementos químicos que apresentam densidade maior do que 5 g cm^{-3} e número atômico maior que 20 (MALAVOLTA *et al.*, 2006). Nesse contexto, o cobre possui densidade média de $8,96 \text{ g cm}^{-3}$ e número atômico 29, sendo, portanto, considerado um metal pesado (WUANA e OKIEIMEN, 2011).

As áreas contaminadas são locais de potencial risco à saúde humana e ao meio ambiente (ANDREAZZA *et al.*, 2013). Conforme a resolução nº 420/2009 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2009) o valor orientador como limite máximo de cobre total em áreas agrícolas é de 200 mg kg^{-1} . Ainda, a portaria N°85/2014 da Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM, 2014) indica um valor de referência de qualidade de 203 mg kg^{-1} de Cu total em solos da província geomorfológicas/geológicas do planalto do Rio Grande do Sul.

O aumento dos teores de Cu no solo pode ocorrer naturalmente, através do material de origem (HUGEN *et al.*, 2013). Entretanto, têm sido verificado o aumento da quantidade de

áreas contaminadas por esse metal em algumas regiões do Brasil, isso devido, principalmente, à intensificação das atividades antrópicas (ANDREAZZA *et al.*, 2010). O uso de fungicidas a base de cobre, fertilizantes, águas residuárias, industrialização, mineração e o descarte inadequado de resíduos urbanos tem provocado aumento nos níveis deste elemento no solo, causando riscos à saúde humana, pela capacidade de bioacumulação do metal nos organismos (MATEOS-NARANJO *et al.*, 2013). Portanto, atividades agrícolas e industriais podem ocasionar o aumento da quantidade de Cu no solo, fato que influencia na atividade biológica (LI *et al.*, 2016) e, conseqüentemente, na capacidade produtiva do solo.

Os três Estados da região sul do Brasil têm como característica a produção suinícola de forma intensiva e em grande escala (ABPA, 2020). Essa atividade gera grandes quantidades de resíduos (águas residuárias da suinocultura) que tradicionalmente são aplicados nos solos como fonte de adubação, pois contém macro e micronutrientes importantes para as culturas (DA ROS, *et al.*, 2017). Dentre os nutrientes presentes nos resíduos, tem-se o cobre, o qual é um elemento adicionado na ração como suplemento para os suínos (ROSTAGNO *et al.*, 2017). Devido a utilização de altas dosagens e aplicações sucessivas de dejetos líquidos de suínos nas áreas agrícolas, têm sido verificado o aumento significativo do conteúdo de Cu no solo, em formas solúveis e trocáveis, potencializando a toxidez aos vegetais e também sua transferência, através de sedimentos, para águas superficiais (BASSO *et al.*, 2012; BISSANI, SEGANFREDO e SÁ, 2014; GIROTTO, *et al.*, 2010). Além disso, no Rio Grande do Sul, foram constatados altos teores de Cu em solos sob cultivo de videiras na serra do Nordeste e áreas de mineração na serra do Sudeste (ANDREAZZA *et al.*, 2013).

Em relação aos efeitos tóxicos do excesso de Cu, nos vegetais pode ocasionar alterações estruturais, morfológicas e fisiológicas, causando danos ao sistema radicular, inibição da absorção de nutrientes, redução da taxa fotossintética e desenvolvimento vegetal (LOURENZI *et al.*, 2019; YRUELA, 2005; CAMBROLLÉ *et al.*, 2015). Além disso, pode levar a estresse oxidativo nas plantas, devido ao aumento na produção de radicais livres de oxigênio tóxicos que danificam lipídeos e proteínas da membrana celular, aminoácidos e ácidos nucléicos (LYUBENOVA *et al.*, 2015; THOUNAOJAM *et al.*, 2012). De acordo com Taiz e Zeiger (2002), o Cu está associado ao transporte de elétrons entre as membranas durante a fotossíntese e quando disponível em sua forma livre, produz radicais livres que podem danificar as membranas celulares por oxidação. Nas raízes, os sintomas tóxicos podem ser observados através do encurtamento, engrossamento e o aumento de raízes laterais (MARQUES *et al.*, 2018; YRUELA, 2005), ocasionando diminuição de absorção de água e

nutrientes e conseqüentemente inibição do crescimento da parte aérea e aumento da biomassa das raízes e dos ramos (KELLER *et al.*, 2015).

O Cu também pode influenciar no ecossistema por meio da seleção de espécies tolerantes à elevadas concentrações do metal, influenciando na biodiversidade local (BOISSON *et al.*, 2018). Nesse contexto, busca-se alternativas de remediação e redução do efeito tóxico do cobre no ambiente, mantendo ou melhorando-se a qualidade e a capacidade produtiva do solo.

2.2 BIOCARVÃO COMO ESTRATÉGIA DE REMEDIAÇÃO DOS SOLOS

O biocarvão ou biochar, é produzido através da pirólise de materiais orgânicos em condições anóxicas em temperaturas variando de 350 a 900 °C (ZHANG *et al.*, 2021). Este material pode ser obtido por meio de vários materiais orgânicos, sendo os mais comuns, aqueles advindos das atividades agrícolas, destacando-se as serragens e cavacos de madeira, resíduos de poda de árvores, resíduos agrícolas, dejetos de animais, estercos, lodos e demais resíduos orgânicos em geral (LORENZ e LAL, 2014).

O biocarvão pode ser utilizado nas áreas agrícolas como um adsorvente, para remoção e controle de possíveis contaminantes (AHMAD *et al.*, 2013). Além disso, pode ocorrer o aumento da eficiência dos nutrientes no solo pela sua atuação como filtro de elementos químicos (SCHMIDT *et al.*, 2021) e possibilidade de aumento do pH, visto que o material é alcalino, o que indiretamente reduz a biodisponibilidade de metais pesados (HUANG, Peng *et al.*, 2018). Além disso, o biocarvão aplicado no solo promove o aumento da atividade biológica (LOPES *et al.*, 2021), aumento da capacidade de troca de cátions (NOVAK *et al.*, 2009), acúmulo de carbono orgânico e melhoria do crescimento radicular das plantas (LEHMANN *et al.*, 2020), maior retenção de água (EDEH; MASEK e BUSS, 2020) e redução da emissão de gases do efeito estufa na atmosfera (KAMMANN *et al.*, 2017).

O biocarvão é um material rico em carbono estável, altamente aromatizado, poroso e grande área superficial específica (YANG *et al.*, 2019; ZHANG Jin *et al.*, 2019), quando os íons metálicos estão próximos ao anel de benzeno do biochar, a nuvem de elétrons pode ser polarizada e produzir um efeito eletrostático fraco, o que leva à fisissorção (GOMEZ-EYLES e GHOSH, 2018). O biocarvão também tem a capacidade de adsorção química dos metais pesados através de grupos funcionais de superfície (XIA *et al.*, 2019), além disso, pode alterar as condições de aeração e umidade do solo, influenciando sobre o potencial redox, diminuindo a toxicidade de metais pesados (NOVAK *et al.*, 2009).

Portanto, a aplicação de biocarvão no solo pode levar à redistribuição de frações metálicas através de vários processos, como adsorção, complexação, redução e precipitação (QI *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2019), promovendo a remediação de áreas contaminadas.

Estudos recentes sobre os efeitos de biocarvões de diferentes matérias-primas apontam efetividade na imobilização de metais pesados, reduzindo assim sua mobilidade e biodisponibilidade em solos contaminados (LU *et al.*, 2017), além da melhoria do rendimento e qualidade de culturas agrícolas (NIE *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2017).

Contudo, são poucas as investigações sobre os efeitos do biocarvão para a imobilização de Cu em solos do sul do Brasil e na promoção do crescimento de plantas.

2.3 FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pertencem a classe Glomeromycota (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006) e têm a capacidade de formar associação simbiótica com cerca de 80% das plantas cultivadas (ZHANG Fengge *et al.*, 2019). Os FMAs possuem ampla distribuição nos ecossistemas, estão presentes em florestas tropicais e temperadas, dunas, desertos, pradarias e sistemas agrícolas (BRUNDRETT, 2009).

A associação com plantas é realizada através da colonização inter e intracelular do córtex da raiz formando os denominados arbúsculos, que são estruturas típicas do fungo e altamente ramificadas, também ocorre formação de hifas enroladas e/ou ramificadas, vesícula (hifas com dilatações terminais) e micélio extra-radicular que cresce solo adentro além da rizosfera (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Essa interação causa melhoria dos atributos do solo e respostas mais efetivas às limitações ambientais, como em áreas com excesso de metais pesados (TORRES; ANTOLÍN E GOICOCHEA, 2018; SHI *et al.*, 2019). Os fungos, por meio de suas hifas aumentam a capacidade da planta hospedeira de absorção de água e nutrientes do solo, em troca, recebe carboidratos necessários para seu crescimento e desenvolvimento (NADEEM *et al.*, 2014; RODRIGUES, BARROSO, FIQUEIREDO, 2018). Além do fornecimento de compostos minerais às plantas, os fungos micorrízicos melhoram as propriedades físico-químicas do solo e podem atuar como filtros para o bloqueio de xenobióticos em seu micélio (BERBARA, SOUZA, FONSECA, 2006; DAYNES *et al.*, 2013).

As micorrizas atuam como barreira física e funcionam como bainha para a planta micorrízica (MA *et al.*, 2019) e imobilizam metais pesados nas raízes das plantas (fitoestabilização) (MIRANSARI, 2011; SCHNEIDER, *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2014). Alguns

mecanismos têm sido verificados sobre a atuação dos FMAs na remediação de solos contaminados por metais pesados, tais como, diluição dos contaminantes nos tecidos vegetais em decorrência do favorecimento da maior produção de massa, exclusão da absorção por meio da precipitação ou quelação dos metais na rizosfera e redução da absorção pela planta devido à retenção e imobilização dos metais nas estruturas fúngicas (MISHRA; BHATTACHARYA e MISHRA, 2019). O conhecimento da capacidade de retenção de metais pesados pelos FMAs, seja pela diminuição da biodisponibilidade destes elementos nos sistemas biológicos ou maior tolerância das plantas ao excesso de metais pesados no solo contribui para a aplicação desses microrganismos em programas de fitorremediação de solos contaminados. Nesse contexto, a fitorremediação com o uso de fungos micorrízicos vem recebendo atenção significativa porque é uma técnica ecologicamente correta, econômica e tem menos efeitos poluentes secundários, ou seja, não envolve outros potenciais contaminantes no processo de remediação (SANTANA, 2020). Além disso, estudos indicam que a inoculação de FMAs e adição de materiais orgânicos como o biocarvão, têm efeitos sinérgicos na promoção da fertilidade do solo e no desempenho das plantas em solos contaminados (LIU *et al.*, 2018).

Apesar da contaminação inorgânica afetar negativamente alguns processos do ciclo de vida dos FMAs, tem-se verificado a ocorrência de isolados fúngicos aparentemente adaptados ao excesso de metais pesados (RIAZ *et al.*, 2021). Assim, as micorrizas arbusculares são relatadas em associação com raízes de plantas em áreas contaminadas por metais (DE MELO *et al.*, 2015; KODRE *et al.*, 2017) e também, são sugeridas para otimização do desenvolvimento e eficiência das plantas sob recursos limitados (HUANG, Xeniaoch, *et al.*, 2018; SCORIZA, CORREIRA, DA SILVA, 2016).

A espécie *Rhizoglosum clarum* pertence a família Glomeraceae, é originária de *Glomus clarum* e *Rhizophagus clarus* e possui ampla distribuição em diferentes solos (SIEVERDING *et al.*, 2014). A espécie *Scutellospora pellucida* pertence a família Gigasporaceae e possui ocorrência confirmada em seis países, sendo que no Brasil, a maioria dos registros está em área com vegetação nativa (OEHL, SOUZA e SIEVERDING, 2008). Tais fungos apresentam desempenho promissor na remediação de áreas contaminadas por metais pesados (SILVA, SIQUEIRA e SOARES, 2006).

Estudos apontam que plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) colonizadas por FMAs são induzidas ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes que são responsáveis pela maior resistência a estresses abióticos, como o excesso de metais pesados (LAMBAIS *et al.*, 2003).

2.4 FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta anual, pertencente à classe das dicotiledôneas, da família *Fabaceae*. Sua evolução ocorreu a partir de um ancestral comum divergindo para dois *pools* genéticos distintos geograficamente, o Mesoamericano e o Andino (SCHMUTZ *et al.*, 2014). A partir dessas populações selvagens, o feijão comum foi domesticado independentemente no México, principal região de domesticação do *pool* Mesoamericano estendendo-se até a Venezuela e a Colômbia, e na América do Sul onde o *pool* genético andino é encontrado no Peru, Chile, Bolívia e Argentina (BITOCCHI *et al.*, 2012; MAMIDI *et al.*, 2013).

No Brasil, a produção de feijão comum é realizada por diversos tipos de produtores e regiões do país, utilizando diferentes níveis tecnológicos (SILVA E WANDER, 2013). Na safra 2020/21, o país obteve produção total de 2.252,7 mil toneladas de feijão comum em 1.560.900 hectares de área plantada somadas as três safras, sendo a região centro-sul, responsável por 74,38% da produção total, com destaque para os estados do Paraná, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e São Paulo (CONAB, 2022).

Com alto teor de proteínas na semente, o feijão comum é um dos principais alimentos da dieta alimentar da população brasileira e seu grande consumo se destaca devido à importância nutricional, social e econômica (LANDAU e MOURA, 2020). Além de fonte nutritiva, o feijão possui diversos benefícios à saúde humana, como atividades antioxidantes, antitumorais e neuroprotetoras (LÓPEZ *et al.*, 2013). As sementes também podem ser utilizadas como complemento medicinal para o tratamento de diabetes devido ao seu potencial anti-hiperglicêmico, podendo reduzir a dose de medicamentos padrões (ATCHIBRI *et al.*, 2010), além de serem fontes de compostos anti-inflamatórios (GARCÍA-LAFUENTE *et al.*, 2014).

A região sul do Brasil, por ser caracterizada pela grande produção de suínos, aves e bovinos, gera altas quantidades de dejetos de animais, que tradicionalmente são adicionados no solo para a adubação das diversas culturas, entre elas o feijão comum (BASSO *et al.*, 2012). Os dejetos, sobretudo de suínos, fornecem nutrientes importantes, capazes de elevar a produtividade das plantas (DA ROS, *et al.*, 2017). Entre os nutrientes do dejetos está presente o cobre (Cu) (CQFS, 2016) que é considerado um micronutriente essencial para a cultura do feijão comum, pois está envolvido em processos enzimáticos, sendo importante para a fotossíntese, na produção de lignina das paredes celulares e de grãos (MALAVOLTA *et al.*,

2006), entretanto, em quantidades disponíveis elevadas no solo pode ser translocado para a os tecidos vegetais e causar certa toxidez na cultura do feijão (YOUNIS, TOURKY e ELSHARKAWY, 2018).

O acúmulo de Cu em *P. vulgaris* está relacionado com a disponibilidade do elemento no solo, principalmente representada pela fração trocável (GROHSKOPF *et al.*, 2016). De acordo com Collet *et al.*, (2018), o feijão, apesar de ser sensível para os índices de germinação, apresenta boa capacidade de produção vegetativa em solos com excesso de Cu, sendo indicado para cultivo em solos com altos teores desse metal. De acordo com Kabata e Pendias (2010), níveis entre 20 e 100 mg kg⁻¹ de Cu nas plantas são considerados tóxicos, sendo que para feijão o limite máximo tolerado (LMT) de Cu nos grãos é de 10 mg kg⁻¹ (BRASIL, 2022). No entanto, o uso de fungos micorrízicos arbusculares influencia positivamente o desenvolvimento de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sob condições de excesso de metais pesados no solo (SÁNCHEZ SÁNCHEZ, 2022), sendo uma alternativa de remediação do solo através do cultivo de uma cultura de interesse comercial.

O biocarvão adicionado ao solo também possui a capacidade de imobilização de cobre em excesso e indisponibilização para as plantas de feijão, contribuindo para a remediação do solo e o desenvolvimento vegetal (SILVA *et al.*, 2017; VANDIONANT *et al.*, 2019).

Portanto, em condições de cultivo em solos contaminados por Cu, deve-se investigar meios de redução do seu efeito tóxico nas plantas, como é o caso da adição de biocarvão e o uso de microrganismos simbióticos, como as micorrizas arbusculares que podem contribuir para o desenvolvimento do feijão comum e condicionando o solo para o seu cultivo.

3 CAPÍTULO 1: BIOCARVÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DE *Phaseolus vulgaris* L. EM SOLO CONTAMINADO POR COBRE

3.1 RESUMO

O cobre é um micronutriente essencial para as plantas, mas quando presente em elevadas concentrações pode causar toxidez no ambiente. Nesse contexto busca-se alternativas de remediação de áreas contaminadas. Sendo assim, o biocarvão pode ser usado para a imobilização de cobre no solo e indisponibilização para as plantas. O objetivo do estudo foi verificar os efeitos da adição de biocarvão em solo contaminado com cobre no desenvolvimento de feijão comum. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 5 x 2, sendo, cinco doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m m⁻¹ de solo seco), sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹ de solo seco), com oito repetições. Avaliou-se altura de plantas, parâmetros de produtividade, volume e área superficial específica de raiz, germinação de sementes, massa seca da parte aérea e de raiz, índice de clorofila, teor de cobre na raiz, na parte aérea e no grão, teor de cobre disponível e pseudo-total no solo e fatores de bioconcentração e de translocação de cobre na planta. O biocarvão derivado de resíduos de eucalipto diminuiu a disponibilidade de cobre em solo contaminado, possibilitando teores nos grãos de feijão abaixo do limite máximo tolerável pela legislação brasileira. Os teores de cobre no tecido vegetal de *Phaseolus vulgaris* L. são reduzidos com a aplicação de biocarvão no solo. O biocarvão aumenta a porcentagem de germinação de sementes, o desenvolvimento vegetal e a produtividade do feijão comum mesmo em solo contaminado com cobre.

Palavras-chave: Feijão comum. Remediação. Imobilização. Metal pesado.

3.2 ABSTRACT

Copper is an essential micronutrient for plants, but when present in high concentrations it can cause toxicity in the environment. In this context, alternatives for remediation of contaminated areas are sought. Thus, biochar can be used to immobilize copper in the soil and make it unavailable to plants. Therefore, the objective of this study was to verify the effects of the addition of biochar in soil contaminated with copper for the development of common bean. The experimental was completely randomized design (DIC) in a 5 x 2 factorial arrangement, with five doses of biochar (0, 0.5, 1, 1.5 and 2% m m⁻¹ of dry soil), with and without addition of copper (1000 mg kg⁻¹ of dry soil), with eight repetitions. Plants height, productivity parameters, root volume and specific surface area, seed germination, shoot and root dry mass, chlorophyll index, copper content in the root, shoot and grain, copper content in the root, shoot and grain were evaluated. of available and pseudo-total copper in the soil and bioconcentration and copper translocation factors in the plant. Biochar derived from eucalyptus residues reduced the availability of copper in contaminated soil, allowing levels in bean grains below the maximum tolerable limit by Brazilian legislation. The copper contents in the plant tissue of *Phaseolus vulgaris* L. are reduced with the application of biochar in the soil. Biochar increases seed germination percentage, plant development and productivity of common bean even in soil contaminated with copper.

Keywords: Common bean. Remediation. Immobilization. Heavy metal.

3.3 INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) é considerado um micronutriente essencial para diversos processos enzimáticos (DECHEN e NACHTIGALL, 2007; HALL, 2002). Esse elemento como catalisador de reações bioquímicas no metabolismo de carboidratos e nitrogênio, na síntese de clorofila e na constituição de proteínas em vegetais (DECHEN e NACHTIGALL, 2007; TAIZ *et al.*, 2017). O Cu no solo pode ser originado naturalmente, através do intemperismo das rochas (HUGEN *et al.*, 2013). Entretanto, tem sido verificado o aumento dos teores desse metal em algumas regiões do Brasil, devido, principalmente, à intensificação das atividades antrópicas (ANDREAZZA *et al.*, 2010).

O Cu, quando presente em elevadas concentrações, pode causar toxidez no ambiente e danos na cadeia alimentar pelo processo de bioacumulação (MARTINS *et al.*, 2011; YRUELA, 2005). Entre os efeitos tóxicos nas plantas, o Cu pode causar alterações estruturais, morfológicas e fisiológicas, causando danos ao sistema radicular, inibição da absorção de nutrientes, redução da taxa fotossintética e desenvolvimento vegetal (LOURENZI *et al.*, 2019; YRUELA, 2005; CAMBROLLÉ *et al.*, 2015). Além disso, pode levar a estresse oxidativo nas plantas, devido ao aumento na produção de radicais livres de oxigênio tóxicos que danificam lipídeos e proteínas da membrana celular, aminoácidos e ácidos nucleicos (LYUBENOVA *et al.*, 2015; THOUNAOJAM *et al.*, 2012). Nas raízes, os sintomas tóxicos podem ser observados através do encurtamento, engrossamento e o aumento de raízes laterais (MARQUES *et al.*, 2018; YRUELA, 2005), ocasionando diminuição de absorção de água e nutrientes e conseqüentemente inibição do crescimento da parte aérea e aumento da biomassa das raízes e dos ramos (KELLER *et al.*, 2015).

Nesse contexto, estudos atuais têm foco em alternativas de remediação para áreas contaminadas por metais pesados, sobretudo o Cu. Sendo assim, o biocarvão pode ser usado para a imobilização ou adsorção de metais pesados no solo (GHOLIZADEH e HU, 2021). Esse material é oriundo da pirólise de materiais orgânicos em condições anóxicas e em temperaturas variando de 350 a 900 °C (ZHANG *et al.*, 2021), é rico em carbono estável, aromatizado, poroso e com grande área superficial específica (YANG *et al.*, 2019; ZHANG Jin *et al.*, 2019). A capacidade de remediação do biocarvão está relacionada ao controle de possíveis contaminantes (AHMAD *et al.*, 2013), através de fisissorção (GOMEZ-EYLES e GHOSH, 2018), adsorção química (XIA *et al.*, 2019) e aumento do pH, o que indiretamente reduz a biodisponibilidade de metais pesados (HUANG, Peng *et al.*, 2018), além disso, pode

influenciar o potencial redox, diminuindo a toxicidade de metais pesados (NOVAK *et al.*, 2009).

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta anual, pertencente à classe das dicotiledôneas, da família das *Fabaceae*. Na safra 2020/21, o Brasil obteve uma produção total de 2.252,7 mil toneladas em 1.560.900 hectares de área plantada somadas as três safras, sendo a região centro-sul, responsável por 74,38% da produção total, com destaque para os estados do Paraná, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e São Paulo (CONAB, 2022).

O acúmulo de Cu em *P. vulgaris* L. está relacionado com a disponibilidade do elemento no solo (GROHSKOPF *et al.*, 2016). O biocarvão possui a capacidade de imobilização de cobre em excesso e indisponibilização para as plantas de feijão, contribuindo para a remediação do solo e o desenvolvimento vegetal (SILVA *et al.*, 2017; VANDIONANT *et al.*, 2019).

Portanto, em condições de cultivo em solos contaminados, deve-se investigar meios de redução do seu efeito tóxico nas plantas e, nesse caso, o potencial da adição de biocarvão no solo para contribuir com o desenvolvimento do feijão. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi verificar os efeitos da adição de biocarvão em solo contaminado com cobre para o desenvolvimento de feijão comum.

3.4 MATERIAIS E MÉTODOS

3.4.1 Local

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Ciências Agrônômicas e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus de Frederico Westphalen, entre os meses de outubro de 2020 e março de 2021, durante 150 dias. O solo utilizado no experimento foi caracterizado como um Latossolo Vermelho (SANTOS, 2018), coletado em área de campo natural na camada de 0-20 cm. Esse solo foi seco ao ar e peneirado em peneira de 2 mm, e então, retirada uma amostra para a determinação de atributos químicos e físicos, conforme metodologia descrita por Embrapa (1997) para textura e Tedesco *et al.*, (1995) para demais atributos (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química e física do solo

pH*	V	MOS	Argila	CTC	Ca	Mg	Al	H+Al
H ² O	-----	% -----	-----	pH 7,0	-----	-----	cmolc L ⁻¹ -----	-----

5,0	10,3	1,5	79	12,2	1,0	0,2	1,5	10,9
P	K	Cu	Zn	S	B	Mn		
----- mg kg ⁻¹ -----								
2,0	21,0	8,4	0,2	15,8	0,18	3,5		

*pH: potencial de hidrogênio; V: saturação por bases; MOS: matéria orgânica do solo; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; H+Al: acidez potencial; P: fósforo; K: potássio; Cu: cobre; Zn: zinco; S: enxofre; B: boro; Mn: manganês. Fonte: Autor (2023).

O biocarvão utilizado foi de produção própria utilizando equipamento desenvolvido na universidade para a pirólise de resíduos de eucalipto (galhos finos), com tempo de pirolização de duas horas, em temperatura de 350 °C e em condições de baixo fluxo de oxigênio (RÓZ *et al.*, 2015). Após a fabricação e padronização de tamanho em 2 mm das partículas do biocarvão, foram retiradas amostras para a caracterização, conforme a tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização do biocarvão

pH	C – Orgânico	Ca	Mg	P	K	S	Cu	Zn	Fe	Mn
H ₂ O	----- % (m m ⁻¹) -----						----- mg kg ⁻¹ -----			
8,0	42,53	0,13	0,15	0,10	0,45	1,71	12,0	23,0	41,3	150,0

*pH: potencial de hidrogênio; C - Orgânico: carbono orgânico; Ca: cálcio; Mg: magnésio; P: fósforo; K: potássio; S: enxofre; Cu: cobre; Zn: zinco; Mn: manganês. Fonte: Autor (2023).

3.4.2 Delineamento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 5 x 2, sendo, cinco doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m m⁻¹ de solo seco), sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹ de solo seco), com oito repetições.

3.4.3 Instalação e condução do experimento

3.4.3.1 Casa de vegetação

Primeiramente foi realizada a correção da acidez do solo com calcário dolomítico (PRNT 85%) e dos níveis de macro e micronutrientes através da utilização de fertilizante mineral formulado, conforme recomendação para cultura do feijão (CQFS, 2016).

As amostras de solo foram condicionadas em vasos plásticos com capacidade de 3,5 litros, numa massa total de 4 kg, para posterior aplicação dos tratamentos e a semeadura do feijão comum.

A contaminação do solo com cobre foi realizada através de uma solução de sulfato de cobre (CuSO_4) adicionada e misturada ao solo, na dose de 1000 mg kg^{-1} (Cu^{2+}), trinta dias antes da semeadura do feijão nos vasos, para possibilitar tempo suficiente para estabilização das reações químicas.

O biocarvão foi aplicado manualmente na superfície do solo quinze dias antes da semeadura do feijão, que condiz ao tempo mínimo necessário para a estabilização das reações químicas (Adaptado de MARCO *et al.*, 2021).

As sementes utilizadas são da cultivar IPR Tuiuiú cedidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), as quais foram previamente desinfectadas com solução hipoclorito de sódio 2 %, por 15 minutos e lavadas em água corrente por 5 minutos. A semeadura foi realizada no mês de dezembro de 2020 em uma profundidade de 4 cm e com o total de três sementes por vaso.

A umidade do solo foi mantida próxima a capacidade de campo durante todo o período de condução do experimento, desde o condicionamento do solo nos vasos até o final do ciclo de 90 dias do feijão. A irrigação foi feita manualmente através da aplicação de uma lâmina de água de 8 mm diários.

Foi feita também, a adubação com nitrogênio (N) de cobertura na cultura, através da utilização de ureia 45% de N no estágio fenológico de V4 aplicando o equivalente a 50 kg de N por hectare. Durante o ciclo, também foi realizado o manejo fitossanitário e demais cuidados necessários para o feijão comum.

Na figura 1 observa-se o feijão em distintos estágios fenológicos de desenvolvimento durante o período experimental.

Figura 1 – Feijão comum nos estágios de desenvolvimento V1 (A), V2 (B), R6 (C) e R8 (D)



3.4.3.2 Testes de germinação

Para os testes de germinação, 5 gramas de solo seco ao ar de cada tratamento descrito no item 3.4.2. foram transferidos para placas de Petri sobre uma camada de papel filtro de umedecido com 20 mL de água deionizada. Cada placa de Petri recebeu quinze sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) que foram previamente desinfectadas com solução hipoclorito de sódio 2%, por 15 minutos e lavadas em água corrente por 5 minutos (SOLAIMAN *et al.*, 2012). O procedimento foi realizado com quatro repetições, conforme procedimento descrito por Morrison e Morris (2000). Todas as placas de Petri foram cobertas com tampas e incubadas a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas durante cinco dias.

3.4.4 Avaliações

3.4.4.1 Avaliações morfológicas

3.4.4.1.1 Altura de plantas (AP)

A determinação da altura de plantas (AP), ocorreu com auxílio de uma fita métrica expressa em centímetros, na qual avaliou-se uma planta de cada vaso, da base do caule rente ao solo até a extremidade do ramo principal.

3.4.4.1.2 Massa seca da parte aérea (MSPA)

Foi coletada uma planta de cada vaso no estágio de floração do feijão, cortada rente ao solo para a secagem em estufa de circulação de ar forçada a 65°C até atingir massa constante e posteriormente foi realizada a pesagem em balança de precisão para a obtenção da massa seca da parte aérea expressa em gramas por planta.

3.4.4.1.3 Massa seca de raízes (MSR)

Após a avaliação de volume radicular, as raízes do feijão foram levadas para secagem em estufa de circulação de ar forçada a 65°C até atingirem massa constante, então foi realizada a pesagem do material em balança digital de precisão para a determinação da massa seca de raízes. O resultado dessa análise foi expresso em gramas por planta.

3.4.4.1.4 Número de vagens por planta (NVP)

O número de vagens por planta foi aferido no momento da colheita, fazendo-se a contagem das mesmas e deixando-as separadas para posterior avaliação de número de grãos por vagem.

3.4.4.1.5 Número de grãos por vagem (NGV)

O número de grãos por vagem foi obtido a partir da divisão entre todos os grãos das plantas de cada vaso pelo número de vagens (item 3.4.4.1.4).

3.4.4.1.6 Peso de mil grãos (PMG)

O peso de mil grãos foi obtido a partir de cem grãos de cada tratamento. Em seguida, tais grãos foram pesados em balança de precisão para a realização do cálculo do peso de mil sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em gramas (g).

3.4.4.1.7 *Produtividade de grãos (PG)*

A produtividade foi determinada com auxílio de uma balança digital de precisão através da pesagem dos grãos produzidos de todas as plantas cultivadas por unidade experimental com teor de água corrigido para 13% e expressa em gramas por planta.

3.4.4.1.8 *Volume radicular (VR)*

Para a determinação do volume radicular foram utilizadas as raízes da planta coletada para a avaliação da MSPA, que foram cuidadosamente retiradas dos vasos e lavadas em água corrente para retirada de partículas de solo e resíduos. O VR foi estimado com auxílio de uma proveta graduada pelo método de deslocamento de água na proveta. O volume das raízes foi expresso em cm³.

3.4.4.1.9 *Área superficial específica de raízes (ASE)*

Após a avaliação de volume radicular e antes da secagem das raízes foi feita a digitalização das raízes com o uso de escâner (HP D110). Após a digitalização, as imagens foram processadas no programa para análises de fibras e raízes Safira 2.0 (JORGE e SILVA, 2010), para a determinação da área superficial específica (ASE).

3.4.4.2 *Porcentagem de germinação de sementes (GS)*

A avaliação foi realizada no quinto dia após a instalação do teste, através da contagem das plântulas de feijão emergidas. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais germinadas.

3.4.4.3 *Parâmetros da clorofila*

Foi determinado o índice de clorofila (IC) das folhas do feijão por meio de clorofilômetro portátil (ClorofiLOG ®, Falker, modelo CFL 1030) (FALKER, 2008), que fornece instantaneamente resultados em unidades adimensionais chamados valores de IRC. O equipamento faz a leitura em 3 comprimentos de onda, dois emissores na faixa do vermelho

(um próximo do pico de cada clorofila, a e b) e um emissor na faixa do infravermelho próximo. Essa determinação foi executada no estádio R6 (florescimento), período recomendado para fazer a coleta de folhas para análise dos teores de nutrientes foliares. Foram utilizadas folhas do terço inferior, médio e superior das plantas, fazendo-se uma média dos resultados. Os resultados foram expressos em índices de clorofila total.

3.4.4.4 Cobre no solo e no tecido vegetal

Foram coletadas amostras de solo de 0,5 gramas para a determinação os teores pseudo-totais de cobre, conforme a metodologia 3050b (USEPA, 1996), com posterior determinação em espectrofotometria de absorção atômica (MIYAZAWA *et al.*, 2009). Os teores de cobre disponíveis foram realizados com a solução extratora Mehlich-1 a qual atua por dissolução ácida, diante da presença dos ácidos sulfúrico e clorídrico (SOBRAL *et al.*, 2013).

A determinação do cobre no tecido vegetal foi realizada pelo método de digestão nítricoperclórica (3:1) e determinação em espectrofotometria de absorção atômica, conforme descrito por (MIYAZAWA *et al.*, 2009) em amostras da MSPA, MSR e grãos separadas e moídas em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 10 mesh.

3.4.4.5 Fatores de translocação (FT) e bioconcentração (FBC)

Os valores das concentrações de cobre quantificados na parte aérea e raízes de feijão comum foram utilizados para os cálculos de fator translocação (FT) e fator de bioconcentração (FBC). O FT significa a capacidade de translocação de Cu das raízes para a parte aérea pelas plantas (SHI *et al.*, 2011). O FT foi calculado pela equação: $FT = CuPA/CuR$, sendo cobre na parte aérea de plantas (CuPA) e cobre nas raízes (CuR). O FBC representa a relação entre o Cu presente na parte aérea das plantas e a quantidade de Cu presente no solo, ou seja, é a capacidade de absorção de cobre pela planta a partir do solo e translocá-lo para os tecidos da biomassa aérea (LIU *et al.*, 2008). O FBC foi calculado pela equação: $FBC = CuPA/CD$, sendo cobre na parte aérea de plantas (CuPA) e teor de cobre disponível no solo (CD).

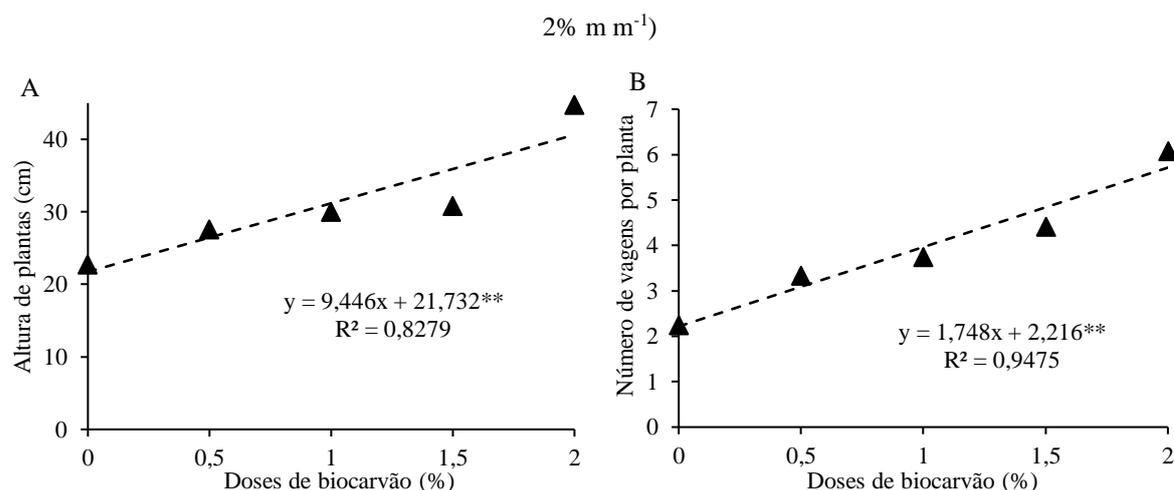
3.4.5 Análise estatística

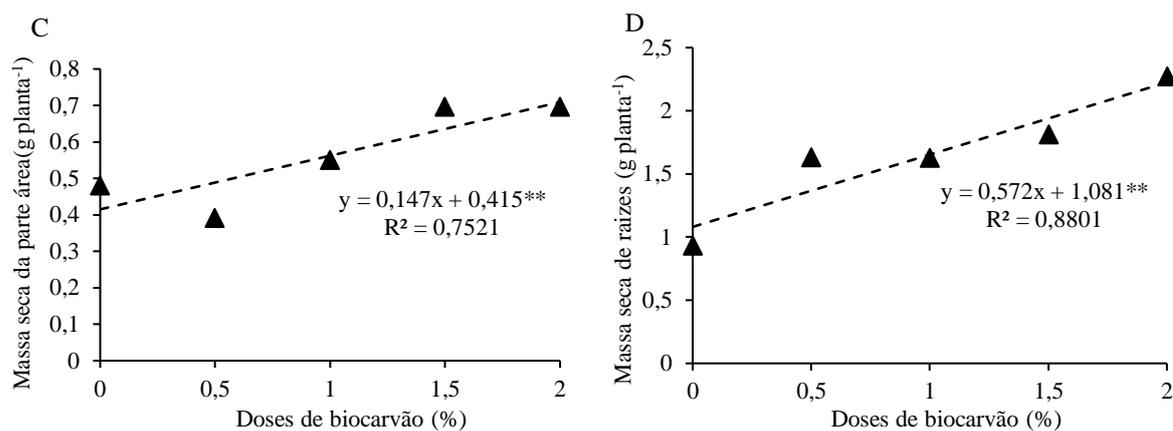
Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e constatado efeito significativo foram realizados testes complementares através de teste de Tukey para fatores qualitativos e de regressão para fatores quantitativos, com o auxílio do software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2019), sendo que em todos os casos foi utilizado 5% de probabilidade de erro.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados não evidenciaram interação significativa entre doses de biocarvão e a adição de cobre no solo para a altura de plantas, massa seca da parte aérea, massa seca de raízes e número de vagens por planta de feijão comum (Figura 2). Porém, ocorreu efeito simples significativo com aumento linear em 96,6% na altura de plantas de feijão comum com o uso de doses de biocarvão (Figura 2A). Resultados de pesquisa evidenciaram que a aplicação de biocarvão no solo aumentou significativamente o crescimento das plantas de acerola chinesa (*Prunus pseudocerasus*), em decorrência deste material induzir melhoria nas condições nutritivas para as plantas (YANG *et al.*, 2022). O biocarvão também induz o crescimento em altura, diâmetros do caule e número de folhas de plantas de *P. vulgaris* (KANG *et al.*, 2022). Além disso, a cultura de *Brassica juncea* cultivada em solo com baixos e altos níveis de cobre apresentou altura reduzida sem aplicação de biocarvão, sendo que o cobre não foi o único fator limitante para o crescimento de plantas e evidenciando a importância do biochar para promoção da melhoria da qualidade do solo para o crescimento da cultura em diferentes níveis do metal no solo (GONZAGA *et al.*, 2022), corroborando com o exposto no presente estudo.

Figura 2 - Altura de plantas (A), número de vagens por planta (B) Massa seca da parte aérea (C) e massa seca de raízes (D) de feijão comum cultivado em solo com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e





** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

Evidenciou-se efeito simples significativo com aumento linear no número de vagens por planta com as doses de biocarvão, partindo-se de 2,25 na dose zero de biocarvão até 6 vagens planta⁻¹ na dose de 2% m m⁻¹, representando 170% de aumento (Figura 2B). A adição de 10% de biocarvão de caule de mandioca induziu aumento significativo na produção de vagens de feijão verde (*Vigna radiata* L.), em decorrência do aumento na concentração de potássio no solo e da eficiência do uso de nutrientes pelas plantas (PRAPAGDEE e TAWINTEUNG, 2017). Doses crescentes de biochar derivado de serragem aumentam o número de vagens, número de grãos e massa seca de grãos de feijão comum, estando correlacionados com a maior absorção de nutrientes, uma vez que as concentrações aumentaram linearmente com o aumento das doses de biocarvão (SILVA *et al.*, 2017). Em geral, os efeitos positivos do biochar estão relacionados ao efeito condicionador sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo (SILVA *et al.*, 2017). Pode-se citar o aumento da capacidade de troca catiônica e disponibilidade de nutrientes, especialmente o fósforo (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014), além disso, o biochar melhora a estrutura do solo e retenção de água (OLMO *et al.*, 2016), enquanto nas propriedades biológicas favorece as interações de microrganismos com vegetais, aumentando assim a absorção de água e nutrientes pelas plantas (HAMMER *et al.*, 2015).

Nota-se que houve efeito simples de aumento linear em 44,7% na massa seca da parte aérea de feijão comum até a dose de 2% m m⁻¹ de biocarvão (Figura 2C). Estudos apontam que o uso de biocarvão em solo contaminado por metais pesados resulta em aumento da produção de biomassa de plantas (VANDIONANT *et al.*, 2019). A partir de estudo realizado por Yan *et al.*, (2021), para avaliar os efeitos de biocarvão de bambu e de arroz e a taxa de aplicação (2,5% e 5 % p p⁻¹) no crescimento de chá (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze),

verificaram resultados positivos, entre os quais os tratamentos com uso de biocarvão proporcionaram um incremento de 55,1% na biomassa em comparação com o tratamento controle, sendo que o resultado foi associado ao aumento da taxa fotossintética e a área foliar das plantas, corroborando com o presente estudo. Independente da concentração de cobre no solo, o biocarvão de diferentes resíduos, como bagaço de laranja e casca de coco, promove o aumento na biomassa vegetal de *brassica juncea* (GONZAGA *et al.*, 2022). Nesse sentido, a biomassa da parte aérea de plantas de *P. vulgaris* foi significativamente maior para plantas cultivadas sem o uso de biocarvão originado de *M. quinquenervia* do que aquelas cultivadas com doses de 2 e 5% $m\ m^{-1}$ de biocarvão no solo (VELEZ *et al.*, 2018), tais autores relacionaram que vários mecanismos podem ser atribuídos ao declínio no desempenho e rendimento da cultura, sendo os fatores principais, a composição e caracterização do biocarvão e a imobilização de nutrientes no solo.

A massa seca de raízes evidenciou efeito simples significativo para as doses de biocarvão com aumento linear de 144% (Figura 2D). O uso de biocarvões produzidos de materiais filtrantes, no crescimento de *Phaseolus vulgaris* L., com doses de 6,52%, 5,84% e 7,11% resultou em incremento de 175, 202 e 143%, respectivamente, para massa seca de raízes (SILVA *et al.*, 2017). A utilização de biocarvão derivado de esterco de galinha resultou em incremento de até três vezes na biomassa de raiz de *Oenothera picensis*, sendo o resultado atribuído ao aumento na disponibilidade de nutrientes, ao aumento do pH e da porosidade do solo (MEIER *et al.*, 2017). O biocarvão além de ser uma fonte de nutrientes, pode elevar o pH do solo, contribuindo para a diminuição da acidez e toxicidade por alumínio, promovendo o crescimento de plantas (GWENZI *et al.*, 2016). Nesse sentido, nota-se os efeitos positivos do biocarvão no crescimento radicular de *P. vulgaris*.

Na análise qualitativa do efeito simples do tratamento cobre, nota-se que não houve diferença significativa para as variáveis altura de plantas, número de vagens por planta, massa seca da parte aérea e de raízes de feijão comum (Tabela 3). Pesquisas apontam que em solo com aplicação de esterco suíno por 11 anos houve aumento na disponibilidade de Cu no solo, porém a produção de matéria seca e a altura das plantas de *Avena sativa* não diferiu em comparação com plantas cultivadas no tratamento controle (BENEDETE *et al.*, 2019). Além disso, plantas de *Calandula officinalis* expostas a diferentes doses de cobre, não apresentaram diferença significativa para massa seca de raízes quando comparadas ao controle (dose zero de Cu) (GOSWAMI e DAS, 2016). Na utilização de altas doses de cobre e zinco o número de vagens por planta de *Phaseolus vulgaris* L. não diferiu do tratamento sem a aplicação destes metais (BILDIRICI, 2020).

Tabela 3 – Altura de plantas, número de vagens por planta, massa seca de parte aérea e massa seca de raízes de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹)

Cobre	Altura de plantas (cm)	Número de vagens por planta	Massa seca da parte aérea (g planta ⁻¹)	Massa seca de raízes (g planta ⁻¹)
Com	30,1 a*	3,86 a	0,50 a	1,61 a
Sem	32,26 a	4,06 a	0,62 a	1,69 a

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Fonte:

Autor (2023).

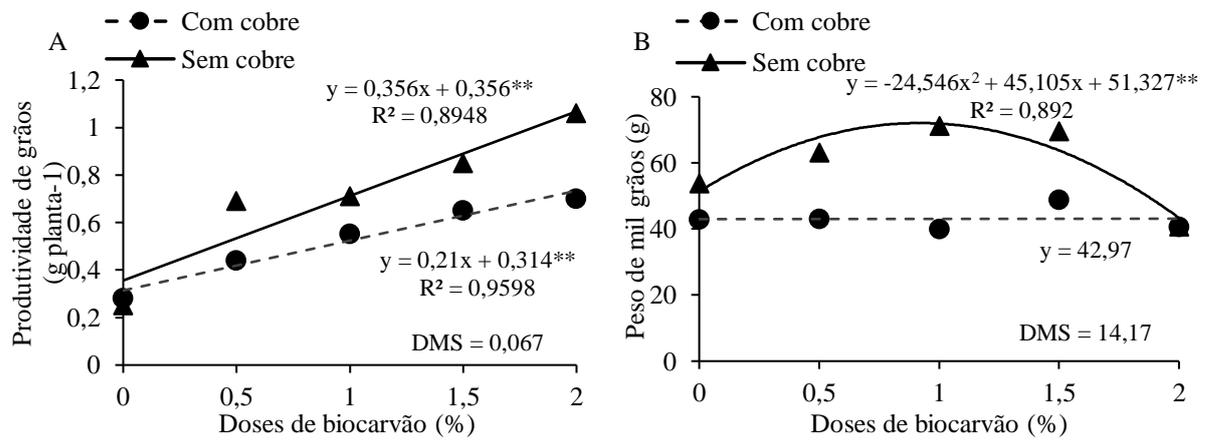
Nota-se que houve interação significativa entre os tratamentos com e sem cobre no solo e as doses de biocarvão para a produtividade de grãos, peso de mil grãos e número de grãos por vagem de feijão comum obtendo-se aumento linear tanto em solo com e sem adição de cobre, com o uso das doses de biocarvão (Figura 3). Em solo com adição de cobre, a produtividade de grãos aumentou em 150%, enquanto que sem adição de Cu o incremento foi de 324% até a dose de 2% m m⁻¹ de biocarvão, sendo superior ao tratamento com cobre nesta dose (Figura 3A). A aplicação de biocarvão no solo também possibilitou maior crescimento de plantas e aumento na produtividade de chá (*Camellia sinensis*), sendo os resultados atribuídos ao incremento de carbono orgânico no solo, melhoria das condições químicas e físicas, como o aumento da capacidade de troca de cátions, aumento do pH e dos teores de P e N do solo (SIPAYUNG *et al.*, 2022). Em milho o biocarvão de dejetos de bovinos aumentou em 150% e 98% a produtividade de grãos, nas doses de 15 e 20 ton ha⁻¹ de biocarvão, respectivamente, sendo atribuído a melhoria de translocação de nutrientes para os grãos (UZOMA *et al.*, 2011). Além disso, a cultura de *P. vulgaris* cultivada em solo contaminado com os metais pesados cobre, zinco e cádmio misturado com biocarvão derivado de esterco de porco apresenta rendimento de grãos maior do que plantas cultivadas sem biocarvão (VANDIONANT *et al.*, 2019). O biocarvão afeta a absorção de Cu pelas plantas, através da alteração da mobilidade, biodisponibilidade e distribuição de Cu nos solos, o que ocasiona o aumento da disponibilidade de outros nutrientes e a diminuição da toxicidade do Cu, resultando em maior desenvolvimento e rendimento das culturas (MEIER *et al.*, 2017).

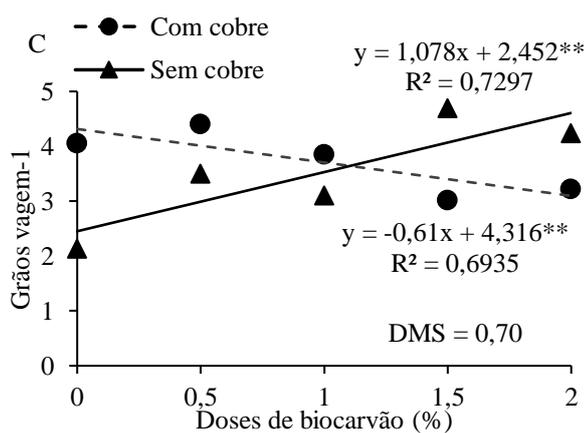
Observou-se no peso de mil grãos de *P. vulgaris*, que no solo com adição de Cu (1000 mg kg⁻¹) não houve ajuste significativo para as doses de biocarvão e a média de peso foi de 42,97 gramas, enquanto que no solo sem Cu houve efeito quadrático significativo com PMG máximo de 72 gramas na dose estimada de 0,91% m m⁻¹ de biocarvão, sendo estatisticamente superior ao tratamento com cobre nesta mesma dose (Figura 3B). O efeito de doses de biocarvão de sabugo de milho (0, 2, 4, 6 e 8 ton ha⁻¹) combinadas com três doses de

fertilizante inorgânico (0, 50 e 100 kg ha⁻¹) foi quadrático positivo para o PMG de *Zea mays* L., sendo o ponto de máxima eficiência quando adicionados de 4 ton ha⁻¹ de biocarvão combinado com 100 kg ha⁻¹ de fertilizante (TUFA *et al.*, 2022), tais autores atribuíram este resultado à melhoria da fertilidade do solo e maior absorção de nutrientes combinado com o processo de fotossíntese eficiente, que resultou também, em maior produtividade de grãos.

O número de grãos por vagem de feijão comum em solo com cobre (1000 mg kg⁻¹) reduziu significativamente de forma linear em 20,5% com o aumento das doses de biocarvão, enquanto que na ausência de Cu no solo essa variável apresentou aumento linear significativo em 98,5% até a dose de 2% m m⁻¹, sendo estatisticamente superior ao tratamento com Cu nesta mesma dose de biocarvão (Figura 3C). Nesse contexto, houve redução significativa no peso e comprimento de vagens de *Phaseolus vulgaris* entre os tratamentos com adição de biochar nas taxas de 2 e 5% m m⁻¹ (VELEZ *et al.*, 2018). No entanto, ressalta-se que pode ocorrer correlação negativa entre o número de vagens por planta e número de grãos por vagem (-0,64), ou seja, geralmente plantas com maior número de vagens produzem menor quantidade de grãos por vagem (AREVALO *et al.*, 2020).

Figura 3 – Produtividade de grãos (A), peso de mil grãos (B) e número de grãos por vagem (C) de feijão comum cultivado em solo com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m m⁻¹) sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹)





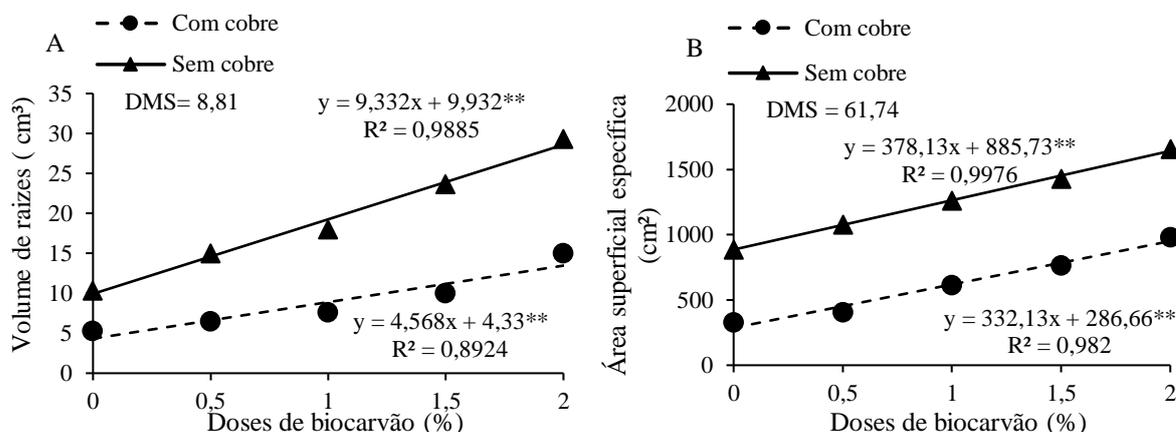
** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

Os resultados evidenciaram interação significativa entre as doses de biocarvão e os níveis de Cu no solo para o volume de raízes de feijão comum, sendo que houve aumento significativo em 181,4% de forma linear com a adição de doses de biocarvão em solo com cobre, sendo assim, na dose 0% m m⁻¹ de biocarvão obteve-se volume de 5,33 cm³, enquanto na dose de 2% m m⁻¹ de biocarvão foi de 15 cm³ (Figura 4A). Em solo sem adição de Cu, o volume de raízes aumentou significativamente em 183,9% com o incremento das doses de biocarvão, sendo que a variação foi de 10,33 cm³ no tratamento sem biocarvão até 29,33 cm³ na dose de 2% m m⁻¹ de biocarvão, evidenciando também, maior VR de *P. vulgaris* no solo sem cobre (Figura 4A). Em estudo sobre a formação de mudas de maracujazeiro amarelo em substrato com uma mistura de solo e esterco bovino contendo cinco doses de biocarvão (0, 5, 12,5, 25 e 50%), obteve-se aumento significativo linear para o volume de raízes (CAVALCANTE *et al.*, 2012). O biocarvão derivado de diferentes resíduos em solo contaminado por cobre, cultivado com milho (*Zea mays* L.) resultou em aumento de 86% no comprimento e número de raízes, sendo que os resultados foram explicados pela maior quantidade de nutrientes no meio de cultivo com o uso do biochar (GONZAGA *et al.*, 2020).

Os resultados da área superficial específica de raízes evidenciam interação significativa entre doses de biochar e níveis de cobre no solo, a ASE aumentou linearmente com as doses de biocarvão aplicadas, sendo de 198% no solo com adição de Cu e de 87% no solo sem adição de cobre, ressaltando ainda que a ASE foi estatisticamente maior em solo sem Cu (Figura 4B). Dados de pesquisas têm demonstrado que o estabelecimento de raízes em solos contaminados por cobre e arsênio pode ser melhorado através do efeito remediador do biocarvão (BRENNAN *et al.*, 2014). A adição de biocarvão em solos contaminados por metais pesados aumenta a área superficial específica de raízes de plantas (*Zea mays*, *Lolium*

perene e *Noccaea caerulea*), que é ocasionada pela melhoria das condições físico-químicas do solo, como a redistribuição dos nutrientes no solo e conseqüentemente a diminuição dos níveis de metais para absorção pelas plantas (REES, STERCKEMAN e MOREL, 2016).

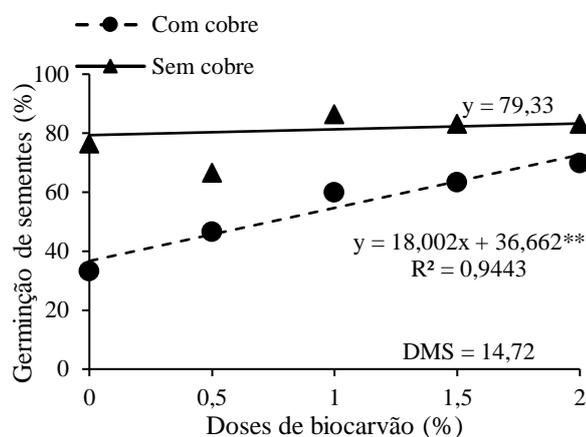
Figura 4 – Volume de raízes (A) e área superficial específica (B) de feijão comum cultivado em solo com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m⁻¹) sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹)



** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

Ocorreu interação significativa entre os fatores de variação para a germinação de sementes, porém, não houve ajuste para as doses de biocarvão no solo sem adição de Cu, no qual a média de 79,33%, já no solo com cobre as doses de biocarvão proporcionaram aumento linear, com média de 33,33% na dose zero e de 70% na dose de 2% (Figura 5). A literatura relata que o cobre em excesso no solo causa inibição significativa da germinação de sementes, reduzindo-a em mais de 90% (CHAÂBENE *et al.*, 2018). Contudo, a elevação na porcentagem de germinação de sementes pode ser atribuída à maior retenção de água, característica do biocarvão produzido a partir da matéria-prima de madeira e à condição física do biocarvão (JEFFERY *et al.*, 2017), além do biochar proporcionar um ambiente de solo melhorado com o aumento do pH para uma faixa favorável para promover maior germinação (CORNELISSEN *et al.*, 2018). Nesse contexto, a germinação de sementes *P. vulgaris* foi de 70% com a dose de 5% m⁻¹ de biocarvão adicionada ao solo e apenas 53% em solo sem uso de biochar (VELEZ *et al.*, 2018). Enquanto que o milho (*Zea mays* L.) em solo contaminado por cobre, evidenciou aumento significativo de 26% na germinação quando utilizado 30 t ha⁻¹ de biocarvão de casca de coco, sendo atribuído ao efeito de redução da disponibilidade de cobre e de aumento do pH do solo (GONZAGA *et al.*, 2020).

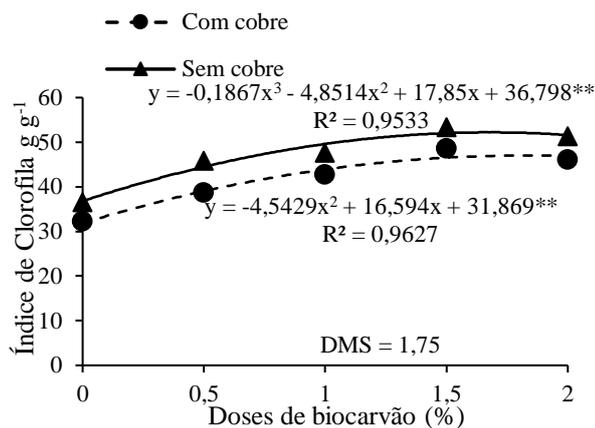
Figura 5 – Porcentagem de germinação de sementes de feijão comum cultivado em solo com diferentes doses de biocarvão (0, 0.5, 1, 1.5 e 2% m m⁻¹) sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹)



** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023)

Os resultados indicaram interação significativa entre os fatores de variação para a clorofila total das plantas de *P. vulgaris* L., com ajuste quadrático com as doses de biocarvão no solo, independente da adição de cobre (Figura 6). Em solo com Cu, o ponto de máximo de clorofila foi de 47 g g⁻¹ na dose de 1,78% de biocarvão, enquanto no solo sem adição de cobre o ponto máximo foi de 52 g g⁻¹ na dose estimada de 1,68% de biochar, sendo estatisticamente superior ao solo com Cu. O aumento significativo no índice de clorofila em relação ao tratamento controle, tem sido atribuído a sua imobilização pelo biocarvão e consequente redução da absorção de cobre pela planta, causando o aumento acentuado da atividade de enzimas antioxidantes e o teor de prolina livre, aliviando o estresse oxidativo induzido pelo cobre (REHMAN *et al.*, 2019). Contudo, Kamran *et al.*, (2020), evidenciou que a dose de 2% de biocarvão possibilitou aumento significativo de 85% na clorofila total das plantas de colza (*Brassica napus* L.), atribuindo o resultado ao aumento da atividade das enzimas antioxidantes proporcionada pela aplicação de biocarvão no solo, reduzindo o estresse oxidativo induzido por metais pesados nas folhas de colza. Enquanto Jabborova *et al.*, (2021), concluíram que o teor de clorofila total das plantas manjeriço (*Ocimum basilicum*) aumentou significativamente com as doses de 2 e 3% m m⁻¹ de biocarvão, sendo atribuído ao aumento da atividade enzimática do solo, do crescimento de plantas pela maior absorção de nutrientes do solo.

Figura 6 – Índice de clorofila de feijão comum cultivado em solo com diferentes doses de biocarvão (0, 0.5, 1, 1.5 e 2% m m⁻¹) sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹)



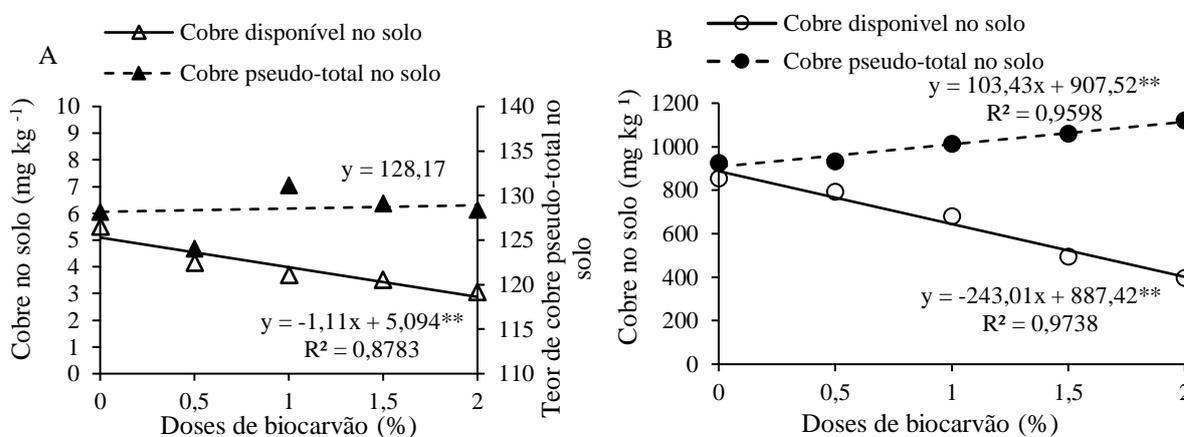
** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

Os teores de cobre pseudo-totais em solo sem adição de cobre, não evidenciaram diferença estatística nas diferentes doses de biocarvão, o qual apresentou uma média de 128,17 mg kg⁻¹, enquanto o cobre disponível no solo sem Cu, apresentou redução significativa linear de 44,5% até a dose de 2% m m⁻¹ de biocarvão (Figura 7A), isso demonstra o efeito do biocarvão na diminuição do teor disponível do metal na solução do solo. Estudo aponta redução dos níveis de alguns metais como o cobre e o zinco no solo ao utilizar biocarvão de *M. quinquenervia* (doses de 2 e 5%) na produção de *P. vulgaris* (VELEZ *et al.*, 2018).

Os teores pseudo-totais de cobre no solo, no tratamento com cobre, aumentaram de forma linear com as diferentes doses de biocarvão (Figura 7B). Todos 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 kg⁻¹ para solos originados de rochas vulcânicas do Planalto do Rio Grande do Sul. Pesquisas apontam que o biocarvão de serrapilheira de chá (*Camellia sinensis* L.) induziu aumento gradual nos teores totais de Cu no solo de acordo com suas crescentes doses (SARMAH *et al.*, 2023). Nesse sentido, a correção de solo por lodo de esgoto combinado com biochar também possibilitou o aumento do teor de cobre total no solo, principalmente nas frações menos disponíveis de baixa mobilidade (BOGUSZ e OLESZCZUK, 2020), enquanto o biocarvão derivado de bagaço de laranja, induziu aumento significativo no teor de cobre total, em decorrência da retenção de cobre nas superfícies do biochar por meio de reações de complexação e a presença de óxidos de Fe e Mn que são fortemente competitivos para o cobre, levando à sua precipitação e imobilização (GONZAGA *et al.*, 2020).

No tratamento com adição de cobre, a disponibilidade do metal reduziu de forma linear significativa com as doses de biocarvão (Figura 7B). Alguns estudos apontam que biocarvões produzidos a partir de diversas fontes de biomassa promovem a imobilização do cobre e outros metais pesados no solo (UCHIMIYA *et al.*, 2010), reduzindo sua disponibilidade (MUNIR *et al.*, 2020), devido a adsorção superficial e aumento do pH do solo (CÁRDENAS-AGUIAR *et al.*, 2017). Além disso, pesquisas apontam resultados discrepantes de 96% de redução na concentração de cobre disponível no solo, até a dose de 10% m m⁻¹ de biocarvão (REHMAN *et al.*, 2019) e redução de 18,6% em solo contaminado com cobre (JIA *et al.*, 2017). Desse modo, o biocarvão possui a capacidade de retenção de uma determinada quantidade de cobre, diminuindo sua disponibilidade para a planta (MOORE *et al.*, 2018).

Figura 7 – Teor de cobre pseudo-total e disponível no solo sem adição de cobre (A) e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹) (B) submetido a doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2 % m m⁻¹)



** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

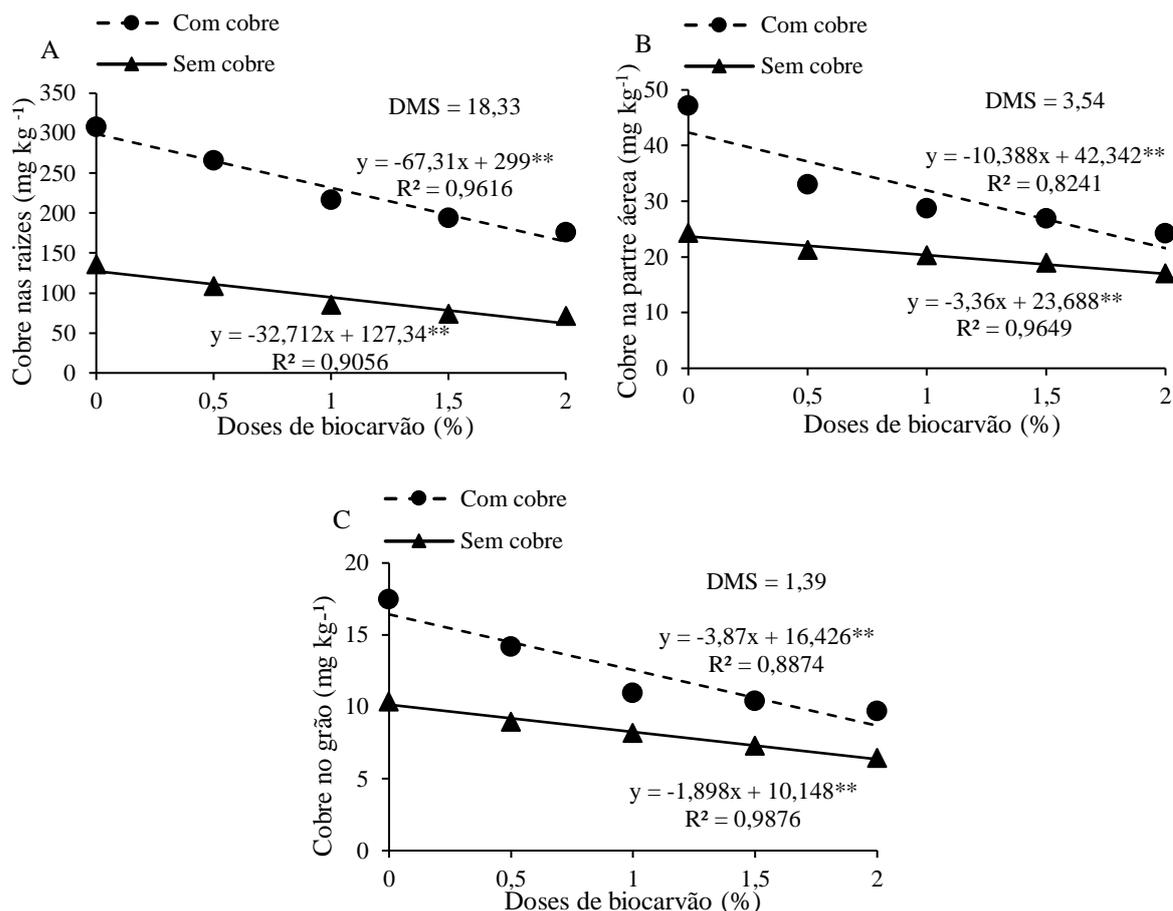
Os resultados evidenciaram interação significativa entre o Cu adicionado no solo e as doses de biocarvão para o teor do metal nas raízes, na parte aérea e nos grãos de feijão comum (Figura 8). Houve redução linear no teor de cobre nas raízes de feijão, tanto em solo com cobre (43%), quanto em solo sem Cu (47,5%), sendo maior no com cobre foi significativamente (Figura 8A). Resultados de pesquisa revelaram que biocarvão derivado de bambu, palha de arroz e de casca de noz chinesa reduziu o acúmulo de Cu nas raízes de bambu moso (*Phyllostachy pubescens*) em 15%, 35% e 26%, respectivamente, e o resultado foi atribuído, ao fato que o biocarvão possui estrutura porosa e grupos funcionais contendo oxigênio abundantes na superfície que podem imobilizar poluentes em solos (WANG *et al.*, 2019). A redução no teor de metais nas raízes também tem sido atrelada ao crescimento

vegetativo, que ocasiona diluição do elemento na massa seca das plantas (ALVARENGA *et al.*, 2018).

O teor de cobre na massa seca da parte aérea do feijão foi significativamente reduzido de forma linear com o incremento de doses de biocarvão no solo, sendo de 29,95% em solo sem adição deste metal e de 48,58% no solo com cobre, mesmo assim, o teor do metal acumulado na parte aérea foi estatisticamente maior no solo com Cu (Figura 8B). A utilização de trevo berseem (*Trifolium alexandrinum*, L.) combinado com a correção de biochar na remediação de um solo arenoso contaminado com metais resultaram em redução significativa da concentração de Cu na parte aérea das plantas (PESCATORE *et al.*, 2022), bem como, a aplicação de biochar derivado de esterco de porco diminuiu a translocação de Cu para a parte aérea de feijão comum (VANDIONANT *et al.*, (2019). Em experimento avaliando o uso de biocarvão de resíduos da fabricação de azeite de oliva no cultivo de *P. vulgaris* para remediação de solos contaminados com metais, foi observado que os teores de metais nas folhas de feijão comum e atividades de enzimas antioxidativas diminuíram, ao ponto que os teores de proteínas solúveis aumentaram com a aplicação do biocarvão e os resultados foram associados à redução da disponibilidade de metais no solo e conseqüentemente a menor absorção pelas plantas com o uso do biochar (HMID *et al.*, 2015).

O teor de cobre acumulado nos grãos de feijão comum diminuiu de forma linear em 80,30% em solo contaminado por cobre e em 60,89% no solo sem cobre, no entanto, este último acumulou menos Cu nos grãos se comparado ao solo com adição de cobre (Figura 8C). Ao analisar as equações de regressão evidencia-se que doses de biocarvão maiores que 1,66% m m⁻¹ aplicadas no solo com cobre (1000 mg kg⁻¹) possibilitam que o teor deste metal acumulado nos grãos de feijão comum ficasse abaixo do limite máximo tolerado de 10 mg kg⁻¹ estabelecido na legislação brasileira (BRASIL, 2022), da mesma forma, mesmo em solo sem adição de Cu, aplicando-se doses a partir de 0,07% m m⁻¹ de biochar possibilitam cumprir o LMT do metal nos grãos descrito na legislação. Nesse sentido, Zong *et al.*, (2021) em trabalho sobre o efeito do biocarvão derivado de palha na biodisponibilidade e acúmulo de Cu em solo contaminado, evidenciaram redução significativa no acúmulo dos metais estudados nos grãos de milho e colza, devido ao efeito imobilizador de metais.

Figura 8 - Teor de cobre nas raízes (A), na parte aérea (B) e no grão (C) de feijão comum cultivado em solo com diferentes doses de biocarvão (0, 0.5, 1, 1.5 e 2% m m⁻¹) sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹)



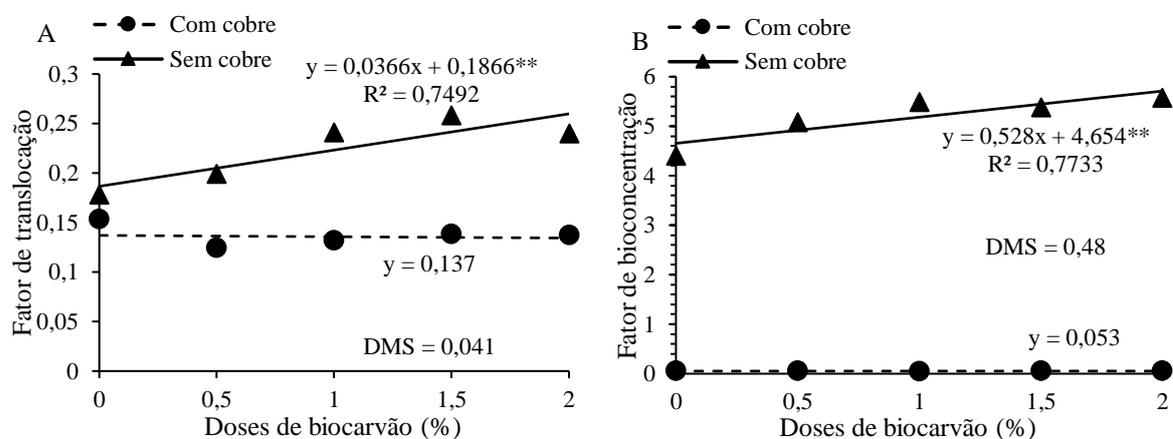
** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

Os resultados evidenciaram que houve interação significativa para os fatores de translocação e bioconcentração com as doses de biocarvão adicionadas em solo com e sem adição de Cu (1000 mg kg⁻¹) (Figura 9). O fator de translocação médio foi de 0,137 no solo com cobre e não houve ajuste em nenhum grau polinomial, enquanto que em solo sem Cu ocorreu aumento linear significativo de 34,8% até a dose de 2% de biochar, sendo superior aos tratamentos com adição de Cu (Figura 9A). Segundo dados de pesquisa, quanto mais próximo a zero o fator de translocação, maior é a probabilidade de sobrevivência e crescimento da planta em ambientes contaminados (SCHEID *et al.*, 2018), isso indica que a cultura possui baixa translocação de Cu para o tecido vegetal acima do solo, independente da dose de biochar aplicada. Estudos apontam que a aplicação do biocarvão de palha de arroz pode ser eficaz na imobilização de metais no solo e reduzir sua absorção e translocação para grãos (ABBAS *et al.*, 2017).

O fator de bioconcentração (FBC) médio foi de 0,053 no feijão comum cultivado em solo com Cu, não havendo ajuste em nenhum grau de polinômios, enquanto que em solo sem adição de cobre ocorreu aumento linear no fator de bioconcentração com as doses de

biocarvão no solo, sendo estatisticamente superior aos tratamentos com Cu (Figura 9B). O FBC foi menor que 1 no solo com cobre, indicando que a concentração de metais foi restrita às raízes do feijão com baixa translocação para a parte aérea das plantas (RASHID *et al.*, 2023). Por outro lado, plantas que apresentam fator de bioconcentração superior a uma unidade podem ser recomendadas, inclusive, para a fitoextração de contaminantes (MCGRATH e ZHAO, 2003). Nesse contexto, as doses de biocarvão foram eficientes para a bioconcentração e translocação de Cu em *P. vulgaris* em solo sem adição deste elemento. Isso indica também, a melhoria da capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas cultivadas em solo com aplicação de biochar (UZOMA *et al.*, 2011).

Figura 9 – Fator de translocação (A) e fator de bioconcentração (B) de feijão comum cultivado em solo com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m^{-1}) sem e com adição de cobre (1000 mg kg^{-1})



** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023)

Plantas que são tolerantes a altas concentrações de metais pesados são geralmente capazes de compartimentar os íons metálicos, sequestrando-os em vacúolos e, assim, excluindo-os dos sítios das células onde ocorrem processos como a divisão celular e a respiração (SINGH *et al.*, 2012). O processo de translocação de metais em espécies vegetais é um fator crucial na determinação da distribuição desses nos tecidos vegetais (TAUQEER *et al.*, 2016). Nesse caso, o feijão comum apresentou desempenho satisfatório mesmo exposto a uma alta concentração de Cu no solo, bem como, o biocarvão demonstrou potencial de remediação de áreas contaminadas, diminuindo a disponibilidade de Cu no solo.

3.6 CONCLUSÃO

O biocarvão derivado de resíduos de eucalipto diminuiu a disponibilidade de cobre em solo contaminado, possibilitando teores nos grãos de feijão abaixo do limite máximo tolerável pela legislação brasileira.

Os teores de cobre no tecido vegetal de *Phaseolus vulgaris* L. são reduzidos com a aplicação de biocarvão no solo.

O biocarvão aumenta a porcentagem de germinação de sementes, o desenvolvimento vegetal e a produtividade do feijão comum mesmo em solo contaminado com cobre.

3.7 REFERÊNCIAS

ABBAS, Tahir *et al.* Effect of biochar on cadmium bioavailability and uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in a soil with aged contamination. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 140, p. 37-47, 2017.

AHMAD, Mahtab *et al.* Trichloroethylene adsorption by pine needle biochars produced at various pyrolysis temperatures. **Bioresource technology**, v. 143, p. 615-622, 2013.

ALBURQUERQUE, José Antonio, *et al.* Effects of biochars produced from different feedstocks on soil properties and sunflower growth. **Journal of plant nutrition and soil Science**, v. 177 n. 1, p. 16-25, 2014.

ALVARENGA, Anarely Costa, *et al.* Produção de biomassa e fitoextração de Cu e Zn pelo capim-elefante cultivado em lodo de esgoto puro. **Engenharia na Agricultura**, v. 26, n. 5, p. 473-482, 2018.

ANDREAZZA, Robson *et al.* Characterization 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.

AREVALO, Ana Caroline Mello *et al.* Parâmetros genéticos, correlações e componentes principais para caracteres agronômicos em genótipos de feijoeiro comum do grupo carioca. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, 2020.

BENEDETE, Lucas *et al.* Copper and zinc in rhizosphere soil and toxicity potential in white oats (*Avena sativa*) grown in soil with long-term pig manure application. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 230, n. 8, p. 1-10, 2019.

BILDIRICI, Numan. The effects of copper-zinc interactions on yield and yield components in soilless grown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Appl. Ecol. Environ. Res**, v. 18, p. 2581-2598, 2020.

BOGUSZ, Aleksandra; OLESZCZUK, Patryk. Effect of biochar addition to sewage sludge on cadmium, copper and lead speciation in sewage sludge-amended soil. **Chemosphere**, v. 239, p. 124719, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Resolução RDC Nº 722, de 1º de julho de 2022. Limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 06 de julho de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: DF, 2009, 365p.

BRENNAN, Aoife *et al.* Effects of biochar amendment on root traits and contaminant availability of maize plants in a copper and arsenic impacted soil. **Plant and soil**, v. 379, n. 1, p. 351-360, 2014.

CAMBROLLÉ, Jesús *et al.* Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178, 2015.

CÁRDENAS-AGUIAR, Eliana *et al.* The effect of biochar and compost from urban organic waste on plant biomass and properties of an artificially copper polluted soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 124, p. 223-232, 2017.

CAVALCANTE, Ítalo Herbert Lucena *et al.* Biochar no substrato para produção de mudas de maracujazeiro amarelo. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 111, n. 1, p. 41-47, 2012.

CHAÂBENE, Zayneb *et al.* Copper toxicity and date palm (*Phoenix dactylifera*) seedling tolerance: monitoring of related biomarkers. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 3, p. 797-806, 2018.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - CQFS RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS-NRS, 2016, 101 p.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Safra Brasileira de Grãos. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 11 abr. 2022.

CONAMA. Resolução nº 420. De 28 de dezembro de 2009. Acesso em: 10 fevereiro de 2022

CORNELISSEN, Gerard *et al.* Biochar Effect on Maize Yield and Soil Characteristics in Five Conservation Farming Sites in Zambia. **Agronomy**, v. 3, n. 2, p. 256-274, 2013.

DECHEN, Antonio Roque; NACHTIGALL, Gilmar Ribeiro. Elementos requeridos à nutrição de plantas. *In*: NOVAIS, Roberto Ferreira; ALVAREZ V, Victor Hugo; BARROS, Nairam Felix de; FONTES, Renildo Lucio; CANTARUTTI, Reinaldo Bertola; NEVES, Julio Cesar Lima. (Org.). **Fertilidade do Solo**. 1 ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. P. 91- 132.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. Ed. ver. Atual. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos; 1).

FALKER, Automação Agrícola Ltda. **Manual do medidor eletrônico de teor clorofila (ClorofiLOG/CFL 1030)**. Porto Alegre: [s.n.], 2008.

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, Daniel Furtado. SISVAR – Sistema de análise de variância. Versão 5.6. Lavras-MG: UFLA, 2019.

GHOLIZADEH, Mortaza; HU, Xun. Removal of heavy metals from soil with biochar composite: A critical review of the mechanism. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 105830, 2021.

GOMEZ-EYLES, José L.; GHOSH, Upal. Enhanced biochars can match activated carbon performance in sediments with high native bioavailability and low final porewater PCB concentrations. **Chemosphere**, v. 203, p. 179-187, 2018.

GONZAGA, Maria Isidória Silva *et al.* Aged biochar changed copper availability and distribution among soil fractions and influenced corn seed germination in a copper-contaminated soil. **Chemosphere**, v. 240, p. 124828, 2020.

GONZAGA, Maria Isidória Silva *et al.* Copper uptake, physiological response, and phytoremediation potential of *Brassica juncea* under biochar application. **International Journal of Phytoremediation**, v. 24, n. 5, p. 474-482, 2022.

GOSWAMI, Sunayana; DAS, Suchismita. Copper phytoremediation potential of *Calandula officinalis* L. and the role of antioxidant enzymes in metal tolerance. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 126, p. 211-218, 2016.

GROHNSKOPF, Marco A. *et al.* Copper and zinc forms in soil fertilized with pig slurry in the bean crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.20, n.9, p.823-829, 2016.

GWENZI, Willis *et al.* Comparative short-term effects of sewage sludge and its biochar on soil properties, maize growth and uptake of nutrients on a tropical clay soil in Zimbabwe. **Journal of Integrative Agriculture**, v.15, p.1395-1406, 2016.

HALL, J. L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of experimental botany**, v. 53, p. 1-11, 2002.

HAMMER, Edith C. *et al.* Biochar increases arbuscular mycorrhizal plant growth enhancement and ameliorates salinity stress. **Applied soil ecology**, v. 96, p. 114-121, 2015.

HMID, Amine *et al.* Olive mill waste biochar: a promising soil amendment for metal immobilization in contaminated soils. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 2, p. 1444-1456, 2015.

HUANG, Peng *et al.* Effects of metal ions and pH on ofloxacin sorption to cassava residue-derived biochar. **Science of the Total Environment**, v. 616, p. 1384-1391, 2018.

HUGEN, Camila *et al.* Teores de Cu e Zn em perfis de solos de diferentes litologias em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 622-628, 2013.

JABBOROVA, Dilfuza *et al.* Impacts of biochar on basil (*Ocimum basilicum*) growth, root morphological traits, plant biochemical and physiological properties and soil enzymatic activities. **Scientia Horticulturae**, v. 290, p. 110518, 2021.

JEFFERY, Simon *et al.* Biochar boosts tropical but not temperate crop yields. **Environmental Research Letters**, v. 12, n. 5, 2017.

JIA, Weili *et al.* Tourmaline and biochar for the remediation of acid soil polluted with heavy metals. **Journal of environmental chemical engineering**, v. 5, n. 3, p. 2107-2114, 2017.

JORGE, Lúcio André de Castro; SILVA, Daniel José da Cunha Bueno. **Safira: Manual de utilização**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2010.

KAMRAN, Muhammad. Ameliorative effects of biochar on rapeseed (*Brassica napus* L.) growth and heavy metal immobilization in soil irrigated with untreated wastewater. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, n. 1, p. 266-281, 2020.

KANG, Min Woo *et al.* Enhancement of soil physical properties and soil water retention with biochar-based soil amendments. **Science of The Total Environment**, v. 836, p. 155746, 2022.

KELLER, Catherine *et al.* Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 μ M Cu. **Planta**, v. 241, n. 4, p. 847-860, 2015.

LAIRD, David. A. *et al.* Multi-year and multi-location soil quality and crop biomass yield responses to hardwood fast pyrolysis biochar. **Geoderma**, v. 289, p. 46-53, 2017.

LIU, Xiaohai *et al.* Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on contaminated sites and their potential accumulation capacity in Heqing, Yunnan. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 12, p. 1469-1474, 2008.

LOURENZI, Cledimar *et al.* Fertilidade do solo e nutrição na produção e sanidade de plantas. In: STADNIK, Marciel; VELHO, Aline; ZORRILLA, Susana. **Desenvolvimento sustentável na produção agroalimentar**. 1 ed. Florianópolis-SC. UFSC, 2019, 218 p.

LYUBENOVA, Lyudmila *et al.* Comparative study on the impact of copper sulphate and copper nitrate on the detoxification mechanisms in *Typha latifolia*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 657-666, 2015.

MARCO, Rudinei De *et al.* *Erythrina crista-galli* L. e turfa na fitorremediação de cobre no solo. **Ciência Florestal**, v. 31, p. 475-490, 2021.

MARQUES, Daniele Maria *et al.* Copper toxicity on photosynthetic responses and root morphology of *Hymenaea courbaril* L. (*Caesalpinioideae*). **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 229, n. 5, p. 1-14, 2018.

MARTINS, Camila Aparecida da Silva; *et al.* A dinâmica de metais-traço no solo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, p. 383-391, 2011.

MCGRATH, Steve P.; ZHAO, Fang-Jie. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current opinion in biotechnology**, v. 14, n. 3, p. 277-282, 2003.

MEIER, Sebastián *et al.* Chicken-manure-derived biochar reduced bioavailability of copper in a contaminated soil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 17, n. 3, p. 741-750, 2017.

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

MOORE, Francisca, *et al.* Copper immobilization by biochar and microbial community abundance in metal-contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 616, p. 960-969, 2018.

MORRISON, David A.; MORRIS, E. Charles. Pseudoreplication in experimental designs for the manipulation of seed germination treatments. **Austral Ecology**, v. 25, n. 3, p. 292-296, 2000.

MUNIR, Mehr Ahmed Mujtaba *et al.* Efeitos sinérgicos de biochar e cinzas volantes processadas na biodisponibilidade, transformação e acúmulo de metais pesados pelo milho (*Zea mays* L.) em solo contaminado por mineração de carvão. **Chemosphere**, v. 240, p. 124845, 2020.

NOVAK, Jeffrey. M. *et al.* Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *Soil Science*, Berlin, v. 174, p. 105-112, 2009.

PESCATORE, Antonio *et al.* Effects of biochar on berseem clover (*Trifolium alexandrinum*, L.) growth and heavy metal (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn) accumulation. **Chemosphere**, v. 287, p. 131986, 2022.

PRAPAGDEE, Songkrit; TAWINTEUNG, Nukoon. Effects of biochar on enhanced nutrient use efficiency of green bean, *Vigna radiata* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 10, p. 9460-9467, 2017.

RASHID, Muhammad Saqib *et al.* Role of biochar-based free radicals in immobilization and speciation of metals in the contaminated soil-plant environment. **Journal of Environmental Management**, v. 325, p. 116620, 2023.

REES, Frédéric; STERCKEMAN, Thibault; MOREL, Jean Louis. Root development of non-accumulating and hyperaccumulating plants in metal-contaminated soils amended with biochar. **Chemosphere**, v. 142, p. 48-55, 2016.

REHMAN, Muzammal *et al.* Influence of rice straw biochar on growth, antioxidant capacity and copper uptake in ramie (*Boehmeria nivea* L.) grown as forage in aged copper-contaminated soil. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 138, p. 121-129, 2019.

RÓZ, Alessandra L. da. *et al.* Maximização do teor de carbono fixo em biocarvão aplicado ao sequestro de carbono. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 810-814, 2015.

SAADAOU, Wassim *et al.* Effects of Lead, Copper and Cadmium on Bioaccumulation and Translocation Factors and Biosynthesis of Photosynthetic Pigments in *Vicia faba* L. (*Broad Beans*) at Different Stages of Growth. *Applied Sciences*, v. 12, n. 18, p. 8941, 2022.

SALIM, Bahaa Badry Mosa. Influence of biochar and seaweed extract applications on growth, yield and mineral composition of wheat (*Triticum aestivum* L.) under sandy soil conditions. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 61, n. 2, p. 257-265, 2016.

SANTOS, Humberto Gonçalves dos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. Ed. Brasília: Embrapa, 2018, 356p.

SARMAH, Mridusmita *et al.* Insights into the effects of tea pruning litter biochar on major micronutrients (Cu, Mn, and Zn) pathway from soil to tea plant: An environmental armour. **Journal of Hazardous Materials**, v. 442, p. 129970, 2023.

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

SHI, Xiang *et al.* Seedling growth and metal accumulation of selected woody species in copper and lead/zinc mine tailings. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 2, p. 266-274, 2011.

SILVA, Isley Cristiellem Bicalho da *et al.* Growth and production of common bean fertilized with biochar. **Ciência Rural**, v. 47, n. 11, 2017.

SINGH, S. *et al.* Heavy metals accumulation and distribution pattern in different vegetable crops. **Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, v. 4, n. 10, p. 170-177, 2012.

SIPAYUNG, Herta Novalina *et al.* Growth Enhancement of *Camellia sinensis* with Biochar. **Processes**, v. 10, n. 2, p. 199, 2022.

SOBRAL, Lafayette Franco *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.

SOLAIMAN, Zakaria M.; MURPHY, Daniel V.; ABBOTT, Lynette K. Biochars influence seed germination and early growth of seedlings. **Plant and soil**, v. 353, n. 1, p. 273-287, 2012.

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

- TAUQEER, Hafiz Muhammad *et al.* Phytoremediation of heavy metals by *Alternanthera bettzickiana*: growth and physiological response. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 126, p. 138-146, 2016.
- TEDESCO, Marino. José *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. Ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995.
- THOUNAOJAM, Thorny Chanu *et al.* Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. **Plant physiology and biochemistry**, v. 53, p. 33-39, 2012.
- TUFA, Abdela *et al.* Levels of Biochar and NPS Fertilizer Rates on Growth, Yield Component, and Yield of Maize (*Zea mays* L.) at Guto Gida, Western Ethiopia. **Advances in Agriculture**, v. 2022, 2022.
- UCHIMIYA, Minori *et al.* Contaminant immobilization and nutrient release by biochar soil amendment: roles of natural organic matter. **Chemosphere**, v. 80, n. 8, p. 935-940, 2010.
- USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3050 B: Acid digestion of sediments, sludges, and soils. Washington, 1996. 12p.
- UZOMA, Kingsley Chinyere *et al.* Effect of cow manure biochar on maize productivity under sandy soil condition. **Soil use and management**, v. 27, n. 2, p. 205-212, 2011.
- VANDIONANT, Stéphanie *et al.* Effect of biochar addition to metal-contaminated soil on *Phaseolus vulgaris*. 2019.
- VELEZ, Thelma I. *et al.* Impact of *melaleuca Quinquenervia* biochar on *Phaseolus vulgaris* growth, soil nutrients, and microbial gas flux. **Journal of environmental quality**, v. 47, n. 6, p. 1487-1495, 2018.
- WANG, Ying *et al.* Effects of biochar on growth, and heavy metals accumulation of moso bamboo (*Phyllostachy pubescens*), soil physical properties, and heavy metals solubility in soil. **Chemosphere**, v. 219, p. 510-516, 2019.
- XIA, Shaopan *et al.* A critical review on bioremediation technologies for Cr (VI)-contaminated soils and wastewater. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 49, n. 12, p. 1027-1078, 2019.
- YAN, Peng *et al.* Biochar stimulates tea growth by improving nutrients in acidic soil. **Scientia Horticulturae**, v. 283, p. 110078, 2021.
- YANG, Kun *et al.* Tobacco straw biochar improved the growth of Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus*) via altering plant physiology and shifting the rhizosphere bacterial community. **Scientia Horticulturae**, v. 303, p. 111244, 2022.
- YANG, Xiaodong *et al.* Surface functional groups of carbon-based adsorbents and their roles in the removal of heavy metals from aqueous solutions: a critical review. **Chemical Engineering Journal**, v. 366, p. 608-621, 2019.

YOUNIS, Mahmoud E.; TOURKY, Shaimaa MN; ELSHARKAWY, Shaimaa EA. Element content, growth and metabolic changes in Cu-and Cd-stressed *Phaseolus vulgaris* plants. **J. Plant Environ. Res**, v. 3, p. 9, 2018.

YRUELA, Inmaculada. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 145-156, 2005.

ZHANG, Chenting *et al.* Pyrolysis of cellulose: Evolution of functionalities and structure of bio-char versus temperature. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 135, p. 110416, 2021.

ZHANG, Jin. *et al.* Effect of tobacco stem-derived biochar on soil metal immobilization and the cultivation of tobacco plant. **Journal of Soils and Sediments**, v. 19, n. 5, p. 2313-2321, 2019.

ZONG, Yutong *et al.* Crop straw-derived biochar alleviated cadmium and copper phytotoxicity by reducing bioavailability and accumulation in a field experiment of rice-rape-corn rotation system. **Chemosphere**, v. 280, p. 130830, 2021.

4 CAPÍTULO 2: INOCULAÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM *Phaseolus vulgaris* L. CULTIVADO EM SOLO CONTAMINADO POR COBRE

4.1 RESUMO

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) associados às plantas possuem a capacidade de aumentar a resistência ao excesso de cobre no solo. O cobre pode causar toxidez no ambiente e danos na cadeia alimentar pelo processo de bioacumulação. Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar o uso de FMAs para o desenvolvimento e acúmulo de cobre em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivado em solo contaminado com cobre. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 3 x 2, sendo, três inoculações de FMAs (Testemunha – sem inoculação; *Rhizogloium clarum* e *Scutellospora pellucida*) e dois níveis de cobre no solo, sem e com adição de Cu (1000 mg kg⁻¹), com oito repetições. Avaliou-se altura de plantas, parâmetros de produtividade, volume e área superficial específica de raiz, germinação de sementes, colonização micorrízica, massa seca da parte aérea e de raiz, índice de clorofila, teor de cobre na raiz, na parte aérea e no grão, teor de cobre disponível e pseudo-total no solo e fatores de bioconcentração e de translocação de cobre na planta. A inoculação de *P. vulgaris* L. com os fungos *R. clarum* e *S. pellucida* promoveu a melhoria de parâmetros de desenvolvimento e produção das plantas cultivadas em solo contaminado com cobre. Os FMAs proporcionaram a redução da disponibilidade de cobre em solo contaminado. A espécie *S. pellucida* proporcionou maiores teores de cobre nas raízes e menores teores na parte aérea de feijão comum cultivado em solo contaminado pelo metal.

Palavras-chave: Feijão comum. Micorrizas. Fitoestabilização. Metal pesado.

4.2 ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) associated with plants have the ability to increase resistance to excess copper in the soil. Copper can cause toxicity in the environment and damage the food chain through the process of bioaccumulation. Thus, the objective of the study was to evaluate the use of AMFs for the development and accumulation of copper in *Phaseolus vulgaris* L. plants grown in soil contaminated with copper. The experimental was completely randomized design (DIC) in a 3 x 2 factorial arrangement, with three AMF inoculations (Control - without inoculation; *Rhizogloium clarum* and *Scutellospora pellucida*) and two levels of copper in the soil, with and without the addition of Cu (1000 mg kg⁻¹), with eight repetitions. plants height, productivity parameters, specific root volume and surface area, seed germination, mycorrhizal colonization, shoot and root dry mass, chlorophyll index, copper content in the root, in the shoot and not grain, available and pseudo-total copper content in the soil and copper bioconcentration and translocation factors in the plant. The inoculation of *P. vulgaris* L. with the fungi *R. clarum* and *S. pellucida* promoted the improvement of the development and production parameters of those cultivated in soil contaminated with copper. AMFs provide a reduction in copper availability in contaminated soil. The species *S. pellucida* influenced higher levels of copper in the roots and lower levels in the aerial part of common bean cultivated in soil contaminated by the metal.

Keywords: Common bean. Mycorrhizae. Phytostabilization. Heavy metal.

4.3 INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) é considerado um micronutriente essencial para diversos processos enzimáticos (DECHEN e NACHTIGALL, 2007; HALL, 2002), atuando como catalisador de reações bioquímicas no metabolismo de carboidratos e nitrogênio, na síntese de clorofila e na constituição de proteínas em vegetais (DECHEN e NACHTIGALL, 2007; TAIZ *et al.*, 2017). No solo, o cobre pode ser originado naturalmente, através do intemperismo das rochas (HUGEN *et al.*, 2013). Entretanto, tem se verificado o aumento dos teores deste metal em algumas áreas, devido principalmente, ao uso de insumos a base de Cu (GONÇALVES *et al.*, 2019) e disposição de resíduos (LISBÔA *et al.*, 2021).

Quando presente em elevadas concentrações, o cobre pode causar toxidez no ambiente e danos na cadeia alimentar pelo processo de bioacumulação (MARTINS *et al.*, 2011; YRUELA, 2005). Entre os efeitos tóxicos nas plantas, o cobre pode causar alterações estruturais, morfológicas e fisiológicas, causando danos ao sistema radicular, inibição da absorção de nutrientes, redução da taxa fotossintética e desenvolvimento vegetal (LOURENZI *et al.*, 2019; YRUELA, 2005; CAMBROLLÉ *et al.*, 2015). Também pode levar a estresse oxidativo nas plantas, devido ao aumento na produção de radicais livres de oxigênio tóxicos que danificam lipídeos e proteínas da membrana celular, aminoácidos e ácidos nucleicos (LYUBENOVA *et al.*, 2015; THOUNAOJAM *et al.*, 2012). Nas raízes, os sintomas tóxicos são encurtamento, engrossamento e o aumento de raízes laterais (MARQUES *et al.*, 2018; YRUELA, 2005), ocasionando diminuição de absorção de água e nutrientes e consequentemente inibição do crescimento da parte aérea e aumento da biomassa das raízes e dos ramos (KELLER *et al.*, 2015). Nesse contexto, estudos atuais têm foco em alternativas de remediação para áreas contaminadas por metais pesados, sobretudo o cobre.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) pertencem à classe Glomeromycota (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006) e têm a capacidade de formar associação simbiótica com cerca de 80% das plantas cultivadas (ZHANG Fengee *et al.*, 2019). Os FMAs possuem ampla distribuição nos ecossistemas, estão presentes em florestas tropicais e temperadas, dunas, desertos, pradarias e sistemas agrícolas (BRUNDRETT, 2009). A associação com plantas é realizada através da colonização inter e intracelular do córtex da raiz formando os arbúsculos, que são estruturas típicas do fungo e altamente ramificadas, também ocorre formação de hifas enroladas e/ou ramificadas, vesícula (hifas com dilatações terminais) e micélio extra-radicular que cresce solo adentro além da rizosfera (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006). Essa interação causa melhoria dos atributos do solo e respostas mais efetivas das plantas às limitações

ambientais (TORRES; ANTOLÍN E GOICOECHEA, 2018; SHI *et al.*, 2019), contribuindo para importantes funções nos ecossistemas naturais (BRUNDRETT, 2009). A fitorremediação de áreas contaminadas por metais através de FMAs está recebendo atenção significativa porque é uma técnica ecologicamente correta, econômica e tem não envolve outros potenciais contaminantes no processo de remediação (SANTANA, 2020).

O acúmulo de Cu em *P. vulgaris* está relacionado com a disponibilidade do elemento no solo, principalmente representada pela fração trocável (GROHSKOPF *et al.*, 2016). De acordo com Collet *et al.*, (2018) o feijão, apesar de apresentar sensibilidade para os índices de germinação, possui boa capacidade de produção vegetativa em solos com excesso de Cu, sendo, portanto, indicado para cultivo em solos com altos teores desse metal. Porém, nessas condições, o limite máximo tolerado (LMT) de 10 mg kg⁻¹ de Cu nos grãos de feijão destinado a alimentação não pode ser excedido (BRASIL, 2022). Nesse contexto, o uso de fungos micorrízicos arbusculares influencia positivamente o desenvolvimento de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em condições de excesso de metais pesados no solo (SÁNCHEZ SÁNCHEZ, 2022), sendo, portanto, uma alternativa de remediação do solo através do cultivo de uma cultura de interesse comercial.

O objetivo do estudo foi avaliar o uso de FMAs para o desenvolvimento e acúmulo de cobre em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivado em solo contaminado com cobre.

4.4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.4.1 Local

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Ciências Agrônômicas e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus de Frederico Westphalen, entre os meses de outubro de 2020 e março de 2021, durante 150 dias. O solo utilizado no experimento foi caracterizado como um Latossolo Vermelho (SANTOS, 2018), coletado em área de campo natural na camada de 0-20 cm. Esse solo foi seco ao ar e peneirado, após autoclavado à 121 °C, em três ciclos de 30 minutos para eliminação de possíveis patógenos. Após isso foi retirada uma amostra para a determinação de atributos químicos e físicos, conforme metodologia descrita por Embrapa (1997) para textura e Tedesco *et al.*, (1995) para demais atributos (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química e física do solo

pH*	V	MOS	Argila	CTC	Ca	Mg	Al	H+Al
H ² O	----- % -----			pH 7,0	----- cmolc L ⁻¹ -----			
5,0	10,3	1,5	79	12,2	1,0	0,2	1,5	10,9
P	K	Cu	Zn	S	B	Mn		
----- mg kg ⁻¹ -----								
2,0	21,0	8,4	0,2	15,8	0,18	3,5		

*pH: potencial de hidrogênio; V: saturação por bases; MOS: matéria orgânica do solo; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; H+Al: acidez potencial; P: fósforo; K: potássio; Cu: cobre; Zn: zinco; S: enxofre; B: boro; Mn: manganês. Fonte: Autor (2023).

Os isolados de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) das espécies *Rhizoglossum clarum* (sp.1) e *Scutellospora pellucida* (sp. 2) foram obtidos junto à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Agrobiologia de Seropédica-RJ.

4.4.2 Delineamento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 3 x 2, sendo, três inoculações de FMAs (Testemunha – sem inoculação; *Rhizoglossum clarum* e *Scutellospora pellucida*) e dois níveis de cobre no solo, sem e com adição de Cu (1000 mg kg⁻¹), com oito repetições.

4.4.3 Instalação e condução do experimento

4.4.3.1 Casa de vegetação

Primeiramente foi realizada a correção da acidez do solo com calcário dolomítico (PRNT 85%) e dos níveis de macro e micronutrientes através da utilização de fertilizante mineral formulado, conforme recomendação para cultura do feijão (CQFS, 2016).

As amostras de solo foram condicionadas em vasos plásticos com capacidade de 3,5 litros, numa massa total de 4 kg, para posterior aplicação dos tratamentos e a semeadura do feijão comum.

A contaminação do solo com cobre foi realizada através de uma solução de sulfato de cobre (CuSO₄) adicionada e misturada ao solo, na dose de 1000 mg kg⁻¹ (Cu²⁺), trinta dias

antes da semeadura do feijão nos vasos, para possibilitar tempo suficiente para estabilização das reações químicas.

As sementes utilizadas foram da cultivar IPR Tuiuiú cedidas pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), as quais foram previamente desinfetadas com solução hipoclorito de sódio 2 %, por 15 minutos e lavadas em água corrente por 5 minutos. A semeadura foi realizada no mês de dezembro de 2020 em uma profundidade de 4 cm e com o total de três sementes por vaso. A inoculação das sementes com os isolados fúngicos foi feita no sulco no momento da semeadura e a dosagem utilizada foi de 100 esporos de FMAs por dose, sendo que foi aplicada uma dose por unidade experimental (vaso).

A umidade do solo foi mantida próxima à capacidade de campo durante todo o período de condução do experimento, desde o condicionamento do solo nos vasos até o final do ciclo de 90 dias do feijão. A irrigação foi feita manualmente através da aplicação de uma lâmina de água de 8 mm diários.

Foi feita também, a adubação com nitrogênio (N) de cobertura na cultura, através da utilização de ureia 45% de N no estágio fenológico de V4 aplicando o equivalente a 50 kg de N por hectare. Durante o ciclo, também foi realizado o manejo fitossanitário e demais cuidados necessários para o feijão comum.

4.4.3.2 Testes de germinação

Para os testes de germinação, 5 gramas de solo seco ao ar de cada tratamento descrito no item 4.4.2. foram transferidos para placas de Petri sobre uma camada de papel filtro de umedecido com 20 mL de água deionizada. Cada placa de Petri recebeu quinze sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) que foram previamente desinfetadas com solução hipoclorito de sódio 2%, por 15 minutos e lavadas em água corrente por 5 minutos (SOLAIMAN *et al.*, 2012). O procedimento foi realizado com quatro repetições, conforme procedimento descrito por Morrison e Morris (2000). Todas as placas de Petri foram cobertas com tampas e incubadas a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas durante cinco dias.

4.4.4 Avaliações

4.4.4.1 Avaliações morfológicas

As avaliações morfológicas foram realizadas conforme descritas no item 3.4.4.1 (Capítulo I).

4.4.4.2 Colonização micorrízica (CM)

Amostras de raízes finas foram clareadas em KOH 10% a 80 °C por 180 minutos e foi repetido o procedimento por três dias consecutivos. Posteriormente, as raízes foram acidificadas com HCl 10 % e coradas com azul de Trypan 0,05% (KOSKE e GEMMA, 1989). A porcentagem de colonização foi estimada pelo método de interseções em lâmina (MCGONIGLE, *et al.*, 1990): as raízes finas cortadas em fragmentos de 1 cm, foram colocadas em glicerina sobre lâminas de microscópio, cobertas com lamínulas e observadas na ampliação 200x, avaliando-se presença de colonização micorrízica através de arbúsculos, hifas e vesículas. Os resultados foram expressos em porcentagem de colonização micorrízica.

4.4.4.3 Germinação de sementes (GS)

A avaliação de germinação de sementes foi realizada conforme descrito no item 3.4.4.2 (Capítulo I).

4.4.4.4 Parâmetros da clorofila

A avaliação dos parâmetros de clorofila foi realizada conforme descrito no item 3.4.4.3 (Capítulo I).

4.4.4.5 Cobre no solo e no tecido vegetal

As avaliações dos teores de cobre no solo e no tecido vegetal foram realizadas conforme descrito no item 3.4.4.4 (Capítulo I).

4.4.4.6 Fatores de translocação (FT) e de bioconcentração (FBC)

As avaliações dos fatores de translocação e de bioconcentração foram realizadas conforme descrito no item 3.4.4.5 (Capítulo I).

4.4.5 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e constatado efeito significativo foram realizados testes complementares através de teste de Tukey, com o auxílio do software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2019), sendo que em todos os casos foi utilizado 5% de probabilidade de erro.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados não evidenciaram interação entre as espécies de FMAs e cobre no solo, bem como não ocorreu significância para os efeitos simples de cada variável no peso de mil grãos de feijão comum, sendo que a média geral de PMG foi de 38,18 gramas. Ridwan *et al.*, (2020), estudaram a inoculação com FMAs e a utilização de adubo líquido orgânico no crescimento e produção de plantas de soja (*Glycine max* L.), e verificaram que não houve diferença significativa para peso de mil grãos.

Os resultados demonstraram interação significativa entre os fatores de variação inoculação micorrízica e níveis de cobre no solo para altura de plantas, número de grãos por vagem, número de vagens por planta e produtividade de grãos (Tabela 2). A inoculação micorrízica com as espécies *Scutellospora pellucida* e *Rhizoglyphus clarum* resultou em maior altura de planta, em solo com adição de Cu, enquanto no solo sem a adição do elemento, a sp. 2 foi superior a sp. 1 e ao tratamento sem inoculação, sendo maior que o solo com adição de cobre (Tabela 2). Em estudo realizado por Rosa *et al.*, (2016) sobre porta-enxerto de videira (*Vitis berlandieri* e *Vitis rupestris*) cultivado em solo com alto teor de Cu verificou-se que a altura de plantas foi estatisticamente maior quando inoculado com *Rhizoglyphus clarum* em comparação com o tratamento sem inoculação. A inoculação com mistura de esporos dos fungos *Glomus macrocarpum*, *Paraglomus occultum* e *Glomus* sp. no estabelecimento inicial de plantas em solo contaminado com metais pesados, resultou em maior altura de *A. mangium*, sendo atribuído ao alívio do efeito tóxico dos contaminantes (PEDROSO *et al.*, 2018). Nesse contexto, mudas de *Canna indica* expostas ao estresse de nanopartículas de óxido de cobre (300 mg kg⁻¹) apresentaram aumento significativo de 11,9% no comprimento da parte aérea quando inoculadas com o FMAs (*Funneliformis mosseae*) (LUO *et al.*, 2022).

Tabela 2 – Altura de plantas (AP), número de grãos por vagem (NGV), número de vagens por planta (NVP) e produtividade de grãos (PG) de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)

Inoculação	Solo		Solo	
	Com cobre	Sem cobre	Com cobre	Sem cobre
	----- AP (cm) -----		----- NGV -----	
Sem inoculação	14,50 Bb	18,50 Ac	3,11 Aa	4,18 Aa
<i>R. clarum</i>	21,00 Ba	30,83 Ab	3,40 Aa	4,37 Aa
<i>S. pellucida</i>	25,00 Ba	42,50 Aa	4,52 Aa	3,18 Ba
CV (%)	13,82		28,58	
	----- NVP -----		----- PG (g planta ⁻¹) ---	
Sem inoculação	2,33 Aa	2,66 Ab	0,27 Bb	0,39 Ac
<i>R. clarum</i>	3,00 Aa	3,16 Ab	0,38 Ba	0,44 Ab
<i>S. pellucida</i>	2,50 Ba	6,50 Aa	0,39 Ba	0,67 Aa
CV (%)	30,48		6,35	

* Médias seguidas por letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

As médias de número de grãos por vagem não evidenciaram diferença significativa para inoculação de ambas às espécies em comparação com o tratamento sem inoculação (Tabela 2). Houve superioridade significativa no NGV para o tratamento inoculado com *Scutellospora pellucida* em solo sem adição de cobre, em comparação ao solo com adição deste elemento (Tabela 2). Andreola *et al.*, (2021), verificaram que a inoculação com micorrizas arbusculares (*Aucalospora colombiana*, *Dentiscutata heterogama* e *Rhizophagus clarus*) proporcionou maior número de grãos e maior número de vagens por planta de soja (*Glycine max*) em solo contaminado com cobre. Bai *et al.*, (2016) testaram a influência da inoculação dupla de fungos micorrízicos arbusculares (*Glomus* sp.) e *Rhizobium* sp. na produtividade de ervilha em um solo ácido com teor médio de fósforo, e verificaram aumento significativo para o número de grãos por vagem com a inoculação.

O número de vagens por planta de feijão comum inoculado com *S. pellucida* em solo sem cobre foi 129,7% maior que o tratamento sem inoculação e em 37,85% ao inoculado com *R. clarum* que por sua vez também se mostrou superior ao solo não inoculado (Tabela 2), enquanto em solo com adição de Cu a inoculação com ambos FMAs resultou em maior NVP que a ausência de inoculação. Além disso, em solo sem cobre houve maior produção de vagens por planta, tanto em feijão inoculado, quanto não inoculado (Tabela 2). Ridwan *et al.*, (2020), estudaram a inoculação com FMAs e a utilização de adubo líquido orgânico no crescimento e produção de plantas de soja (*Glycine max* L.), obtiveram aumento significativo para o NVP quando utilizado somente micorrizas.

A produtividade de grãos de *P. vulgaris* foi maior em solo sem cobre e com a inoculação de *S. pellucida*, sendo 44,4% maior que o tratamento sem inoculação e

significativamente maior que o solo com cobre, porém no solo contaminado com cobre as inoculações de FMAs foram maiores que o tratamento sem inoculação (Tabela 2). Os FMAs (*Funneliformis mosseae*) proporcionam aumento de 59,1% na produtividade de grãos de soja em solo com excesso de metais pesados, sendo atribuído ao aumento da absorção e o acúmulo de fósforo nos tecidos da planta e pela redução pela toxicidade dos metais (ADEYEMI *et al.*, 2021). Estudos apontam que a associação de FMAs em plantas hospedeiras aliviam estresses abióticos e aumentam a produção de grãos (GARG e CHANDEL, 2011).

Foi constatada interação significativa entre os níveis de cobre no solo e a inoculação com FMAs no acúmulo de massa seca da parte aérea de massa seca de raízes de feijão (Tabela 3). O uso de *S. pellucida* em solo com cobre resultou em maior produção de massa seca da parte aérea, sendo 51,1% superior ao *R. clarum* e 80,55% ao tratamento sem inoculação e foi maior também em 83,33% em relação ao tratamento sem inoculação no solo sem adição de cobre, além disso, em solo sem adição de cobre o acúmulo de MSPA foi maior se comparado ao solo com adição de cobre (Tabela 3). Estudos sobre a variabilidade funcional de FMAs para colonização radicular e a promoção de crescimento de milho, demonstram que entre 41 isolados, 23 apresentaram influência positiva significativa para o acúmulo de massa seca da parte aérea de plantas, entre eles *Rhizophagus clarus* e *Scutellospora pellucida*, que não diferiram entre si (NOVAIS *et al.*, 2014). Em pesquisa sobre o efeito de três FMAs e esterco bovino evidenciou-se que *Scutellospora fulgida* e *Glomus manihotis* ocasionaram maior biomassa seca da parte aérea de pimenta (*Capsicum frutescens*), sendo associado a dependência micorrízica das plantas e também a adaptação a ambientes pobres em nutrientes (JIMÉNEZ *et al.*, 2017).

Tabela 3 – Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR), volume radicular (VR) e área superficial específica de raízes (ASE) de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglosum clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)

Fungo	Solo		Solo	
	Com cobre	Sem cobre	Com cobre	Sem cobre
	-- MSPA (g planta ⁻¹) --		---- MSR (g planta ⁻¹) ----	
Sem inoculação	0,36 Bb	0,54 Ac	0,95 Bc	1,39 Ac
<i>R. clarum</i>	0,43 Bb	0,85 Ab	1,30 Bb	1,75 Ab
<i>S. pellucida</i>	0,65 Ba	0,99 Aa	1,44 Ba	2,10 Aa
CV (%)	12,55		4,32	
	----- VR (cm ³) -----		----- ASE (cm ³) -----	
Sem inoculação	5,00 Bc	10,00 Ac	261,75 Bc	679,00 Ac
<i>R. clarum</i>	8,42 Bb	15,50 Ab	411,75 Bb	940,75 Ab
<i>S. pellucida</i>	10,50 Ba	18,25 Aa	630,50 Ba	1171,75 Aa
CV (%)	8,97		7,11	

* Médias seguidas por letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

Na produção de MSR, a inoculação com micorrizas gerou resultados semelhantes, tanto no solo com adição de Cu, quanto no solo sem cobre, sendo que a *S. pellucida* foi superior aos demais tratamentos em ambos os solos, enquanto que *R. clarum* apresentou resultados estatisticamente superiores quando comparado com o tratamento sem inoculação, além de serem maiores quando cultivado em solo sem adição de cobre (Tabela 3). Estudos demonstraram que a biomassa seca de raiz de *Capsicum frutescens* é aumentada através da associação micorrízica de *S. fulgida* (JIMÉNEZ *et al.*, 2017). E em videiras jovens cultivadas em solo contaminado por Cu a inoculação com *R. irregularis* e *R. clarus* resultou em maior MSR que o tratamento controle, sendo ocasionados pela capacidade das micorrizas de mitigação do estresse causado pelos altos níveis de Cu no solo e também por promover maior absorção de água e nutrientes pelas raízes através das estruturas fúngicas (AMBROSINI *et al.*, 2015). Plantas associadas aos FMAs geralmente apresentam maior produção de matéria seca devido a melhoria da capacidade de absorção de água e nutrientes, além disso, a maior quantidade de biomassa promove a capacidade de diluição do metal (cobre), proporcionando maior tolerância ao efeito tóxico sobre a planta (CERRENHO, ALVES e SANTOS, 2018).

Os resultados evidenciaram interação significativa entre os fatores de variação para o volume radicular e área superficial específica de raízes de feijão comum (Tabela 3). Em ambos os solos (contaminado e não contaminado por cobre) a *S. pellucida*, obteve significativamente as maiores médias para volume de raízes, enquanto o tratamento sem inoculação foi estatisticamente menor que às duas inoculações e, foi significativamente superior em solo sem adição de Cu, independente do uso da inoculação (Tabela 3). Gardezi *et al.*, (2010), ao estudar o crescimento vegetativo de feijoeiro inoculado com *Glomus intraradices*, obteve aumento de cerca de 204 % no volume de raiz em solo inoculado, quando comparado ao solo sem inoculação.

Independente da adição de Cu, a área superficial específica de raízes de *P. vulgaris*, foi maior com a inoculação de *S. pellucida*, no entanto, *R. clarum* superou o tratamento sem inoculação, sendo, porém, maior em solo sem contaminação (Tabela 3). A colonização micorrízica resulta em um aumento na área de superfície radicular devido as longas hifas fúngicas que podem se estender por uma vasta área no solo e proporciona a absorção de maior quantidade de nutrientes, incluindo metais pesados na raiz hospedeira (AGARWAL, SINGH e SINGH, 2017).

Houve interação significativa entre os fatores de variação para a colonização micorrízica (Tabela 4). A *S. pellucida* possibilitou maior colonização micorrízica nas raízes

de feijão comum, com média de 37,5% e 57,5% para o solo com e sem cobre, respectivamente, sendo para ambos os inóculos, maiores no solo sem cobre (Tabela 4). Resultado de Rosa *et al.*, (2016) evidenciou que a maior colonização das raízes foi observada nas videiras inoculadas com *R. clarus* (40% de colonização), seguido pelas videiras inoculadas com os FMAs *D. heterogama* e *A. morrowiae* (com 25% das raízes colonizadas) e as videiras sem inoculação também não apresentaram CM. Segundo Jiménez *et al.*, (2017), a porcentagem de colonização micorrízica encontrada em *Capsicum frutescens* nos tratamentos de *Scutellospora fulgida* e *Glomus manihotis* foi de 26,31% e 9,31%, respectivamente, sendo a *S. fulgida* estatisticamente superior a *G. manihotis*. Santana *et al.*, (2019), trabalhando na fitorremediação de Cu, obteve em média 42% de colonização micorrízica em *Canavalia ensiformis* em solo arenoso sem contaminação por cobre, enquanto em solo contaminado também ocorreu diminuição na média.

Tabela 4 – Colonização micorrízica (CM) de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglopus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)

Fungo	Solo	
	Com cobre	Sem cobre
	----- CM (%) -----	
Sem inoculação	0,00 Ac	0,00 Ac
<i>R. clarum</i>	25,00 Bb	35,00 Ab
<i>S. pellucida</i>	37,50 Ba	57,50 Aa
CV (%)	21,40	

* Médias seguidas por letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

A porcentagem de germinação de sementes de feijão evidenciou interação significativa entre os fatores de variação, sendo maior com a inoculação por *S. pellucida*, quando comparado aos demais tratamentos em solo com adição de Cu, sendo maior no tratamento sem cobre, porém sem diferença quanto a inoculação (Tabela 5). Em estudo sobre *Elsholtzia splendens* em relação à tolerância aos solos contaminados por cobre, a porcentagem de germinação de sementes aumentou significativamente com a inoculação com FMAs, sendo atribuído a esses fungos poderem condicionar a rápida adaptação de *E. splendens* ao estresse causado por Cu (LI *et al.*, 2017).

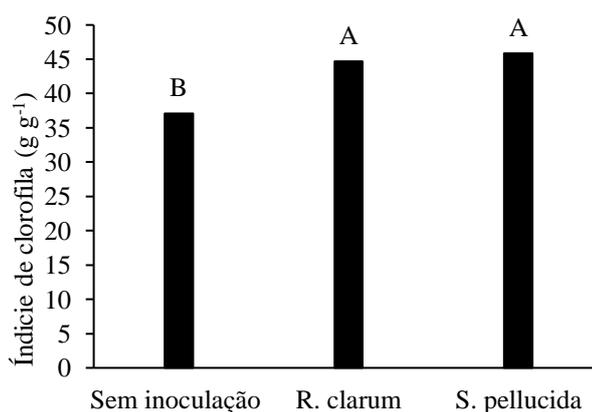
Tabela 5 – Porcentagem de germinação de sementes de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglopus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)

Fungo	Solo	
	Com cobre	Sem cobre
Sem inoculação	36,00 Bb	80,00 Aa
<i>R. clarum</i>	42,00 Bb	96,00 Aa
<i>S. pellucida</i>	64,00 Ba	92,00 Aa
CV (%)	15,81	

* Médias seguidas por letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

Não houve interação significativa entre FMAs e o Cu no solo para a clorofila total de *P. vulgaris*. Na comparação do efeito simples dos fungos micorrízicos, evidenciou-se que o tratamento controle apresentou menor índice de clorofila, sendo assim, diferindo-se estatisticamente das espécies de fungos (Figura 1). Nesse contexto, estudos indicam que a inoculação com FMAs aumenta significativamente os teores de clorofila foliar de *Canna indica* em 20%, sendo o resultado atribuído ao fato de que a faixa de aquisição de nutrientes pela raiz da planta é ampliada devido ao crescimento das hifas micorrízicas e o processo de ciclagem de nutrientes da rizosfera são aprimorados, o que pode levar a uma melhoria do estado nutricional da planta e aumento do teor de clorofila (LUO *et al*, 2022).

Figura 1 – Índice de clorofila total de feijão comum cultivado sem inoculação e inoculado com *Rhizoglossum clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)



* Letras maiúsculas iguais não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

Na comparação do efeito simples do Cu no solo, o índice de clorofila foi maior em solo não contaminado com cobre (Tabela 6). Em estudo com *Canna indica* expostas ao estresse nanopartículas de óxido de cobre, constatou-se que, com a elevação dos teores de CuO nos meios de cultivo, os teores de clorofila foliar diminuíram (LUO *et al*, 2022). Ainda, a taxa fotossintética líquida e a transpiração foram menores nas plantas de pimentão tratadas

com concentrações crescentes de Cu no solo, independentemente do inóculo de FMAs (RUSCITTI, ARANGO e BELTRANO, 2017). Níveis elevados de Cu nas plantas podem causar diminuição dos índices de clorofila nas folhas, o que pode ser causado pela indução de deficiência de ferro (Fe) nos tecidos vegetais (AMBROSINI *et al.*, 2015).

Mesmo não havendo interação entre cobre e inóculo, a literatura relata que os metais pesados, como neste caso o cobre, podem causar diversos efeitos negativos à planta, entre eles a redução da taxa de fotossíntese, taxa de respiração e eficiência fotoquímica, desta forma, os FMAs são utilizados para aliviar o estresse causado por estes elementos (ANAND *et al.*, 2022; NAGAJYOTI, LEE e SREEKANTH 2010). Doubková e Sudová (2016), em estudo sobre o efeito de *Rhizophagus irregularis* em *Agrostis capillaris*, em local contaminado com metais pesados (Pb, Cd, Zn e Cu), afirmam que as concentrações de clorofila diminuíram com o aumento da contaminação do solo pelos metais, porém as plantas inoculadas apresentaram aumento nos teores de clorofila em solo contaminado, sendo esse resultado justificado, pelo fato que o FMAs causou alívio do estresse causado pelos metais.

Tabela 6 – Índice de clorofila total de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹)

1)

Solo	Índice de clorofila (g g ⁻¹)
Com cobre	40,99 b
Sem cobre	44,06 a
CV (%)	4,57

* Médias seguidas por letras iguais minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

Os resultados mostraram interação significativa entre os fatores de variação para os teores de Cu disponíveis e pseudo-totais. Constatou-se que a inoculação do feijão comum com *S. pellucida* e *R. clarum* proporcionaram menor teor de Cu disponível no solo contaminado, em relação ao tratamento sem inoculação, porém, em solo sem adição de cobre não houve diferença significativa, sendo que nessas condições verificou-se menor disponibilidade deste elemento em comparação ao solo com cobre (Tabela 7). Estudos apontam redução da disponibilidade de cobre no solo através da inoculação com micorrizas arbusculares (MANYIWA e ULTRA JR, 2022). Os FMAs podem compartimentalizar o Cu nos esporos sem que existam danos no seu metabolismo e, por consequência, também promovem a redução da disponibilidade de Cu às raízes e tecido vegetal (CORNEJO *et al.*, 2013). Além disso, a simbiose das plantas com fungos micorrízicos potencializa a imobilização de cobre no solo, pois estimula a exsudação pelas plantas de ácidos orgânicos, como citrato e malato que

formam ligações com diversos metais pesados, resultando no efeito quelante dos contaminantes, reduzindo sua disponibilidade e conseqüentemente a toxicidade aos organismos no ambiente (CARRENHO, ALVES e SANTOS, 2018).

Tabela 7 – Teores de cobre disponível (CD) e de cobre pseudo-total (CPT) em solo cultivado com feijão comum, sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)

Fungo	Solo		Solo	
	Com cobre	Sem cobre	Com cobre	Sem cobre
	---- CD (mg kg ⁻¹) ----		----- CPT (mg kg ⁻¹) -----	
Sem inoculação	898,83 Aa	5,05 Ba	1169,80 Ab	129,10 Ba
<i>R. clarum</i>	672,00 Ab	3,98 Ba	1175,83 Ab	124,03 Ba
<i>S. pellucida</i>	643,33 Ac	4,05 Ba	1232,50 Aa	129,83 Ba
CV (%)	2,37		2,87	

* Médias seguidas por letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

Não houve diferença significativa entre inoculações para os teores pseudo-totais de Cu no solo sem adição deste elemento, no entanto, em solo com cobre, a inoculação de *Scutellospora pellucida* possibilitou maior teor de Cu pseudo-total em comparação aos demais tratamentos (Tabela 7). Ressalta-se que os valores do solo com cobre ficaram acima dos limites máximos de investigação permitidos pela resolução nº 420, que é de 200 mg kg⁻¹ (CONAMA, 2009) e de 203 mg kg⁻¹ para solos originados de rochas vulcânicas da região do Planalto do estado do Rio Grande do Sul, Brasil (FEPAM, 2014).

Em relação aos teores de cobre nas raízes, na parte aérea e nos grãos de feijão comum, constatou-se interação significativa entre os fatores de variação (Tabela 8). No solo contaminado por cobre, a inoculação com *S. pellucida* possibilitou maior teor de Cu na MSR, seguido de *R. clarum*, não havendo diferença no solo sem adição de Cu que foi significativamente menor (Tabela 8). Estudos demonstram que plantas inoculadas com *G. gigantea*, *A. morrowiae*, *A. colombiana* ou *R. clarus* acumulam maiores teores de Cu nas raízes com aumento médio de 59% (AMBROSINI *et al.*, 2015). Os resultados aqui apresentados corroboram os de Andrade, Silveira e Mazzafera (2010), que observaram aumento nas concentrações de Cu nas raízes de cafeeiros jovens micorrizados, cultivados em solo com alto teor deste metal. Jia-Qi *et al.*, (2022) também observaram que os FMAs, incluindo *S. pellucida*, promoveram aumento no teor de cobre nas raízes fibrosas de *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*.

Tabela 8 – Teores de cobre nas raízes (CuR), cobre na parte aérea (CuPA) e cobre nos grãos (CuG) de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)

Fungo	Solo		Solo	
	Com cobre	Sem cobre	Com cobre	Sem cobre
	----- CuR (mg kg ⁻¹) -----		----- CuPA (mg kg ⁻¹) -----	
Sem inoculação	407,93 Ac	99,05 Ba	47,03 Aa	14,66 Bb
<i>R. clarum</i>	522,62 Ab	114,49 Ba	42,01 Ab	23,09 Ba
<i>S. pellucida</i>	653,00 Aa	143,09 Ba	38,04 Ac	16,37 Bb
CV (%)	11,39		5,22	
Fungo	Solo			
	Com cobre		Sem cobre	
	-----CuG (mg kg ⁻¹) -----			
Sem inoculação	22,51 Aa		8,95 Ba	
<i>R. clarum</i>	15,20 Ab		9,49 Ba	
<i>S. pellucida</i>	15,63 Ab		8,98 Ba	
CV (%)	6,85			

* Médias seguidas por letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

O teor de Cu na parte aérea de *P. vulgaris* em solo com adição do elemento foi maior no tratamento sem inoculação, sendo superior aos tratamentos inoculados, enquanto que *S. pellucida* proporcionou menor teor de cobre e também no solo sem adição deste metal, porém sem diferir da testemunha (Tabela 8). No geral, o acúmulo de cobre na biomassa da parte aérea de feijão foi maior quando cultivado em solo com adição de cobre. Nesse contexto, estudos revelam que o uso de micorrizas reduzem as concentrações de Cu na parte aérea de *Colospospermum mopane* (MANYIWA e ULTRA JR, 2022). Além disso, as micorrizas promovem a redução do teor de metais na parte aérea da *Brachiaria decumbens*, reduzindo a toxicidade, favorecendo o crescimento e maior extração de metais pesados do solo que ficam acumulados no sistema radicular (SILVA, SIQUEIRA e SOARES, 2006).

A inoculação, no solo com adição de cobre possibilitou menores teores de cobre nos grãos de feijão, porém não diferindo-se em solo não contaminado, que foi significativamente menor (Tabela 8). O teor de Cu nos grãos de trigo cultivado com diferentes doses deste metal e inoculado com *Acaulospora Colombiana*, *Gigaspora Margarita* e *Rizophagus Clarus* também foi reduzido com o uso dos inoculantes (TURCHETTO *et al.*, 2022). De acordo com a Instrução Normativa nº 160, de 01 de julho de 2022 que estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de cobre em alimentos (BRASIL, 2022), mesmo as inoculações tendo reduzidos os teores do metal nos grãos de feijão, os resultados superam o LMT de 10 mg kg⁻¹ em todos os tratamentos testados em solo contaminado.

Os resultados evidenciaram interação significativa para os fatores de translocação e de bioconcentração entre inóculos e níveis de Cu no solo (Tabela 9). Em solo com cobre, as espécies *R. clarum* e *S. pellucida* proporcionaram menor translocação do metal nas plantas de feijão, enquanto no solo sem cobre a *S. pellucida* foi significativamente menor que as demais inoculações, sendo que em solo sem cobre a translocação foi maior (Tabela 9). A inoculação com o FMA *Funneliformis mosseae* proporcionou redução da translocação de Cu em 21,8% para a parte aérea de plantas de soja (ADEYEMI *et al.*, 2021). Segundo Silva, Siqueira e Soares (2006) a inoculação de fungos micorrízicos arbusculares reduz a transferência de metais pesados para a parte aérea de gramíneas cultivadas em solos contaminados por metais pesados, ficando retido nas raízes das plantas. Estudo com *Canavalia ensiformis* cultivada em solo arenoso com alta concentração de Cu, inoculado com o fungo *Rhizophagus clarus* também demonstrou que a translocação do Cu para a MSPA foi menor do que no tratamento sem inoculação (SANTANA *et al.*, 2015).

Tabela 9 – Fator de translocação (FT) e fator de bioconcentração (FBC) de feijão comum cultivado em solo sem e com adição de cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*)

Fungo	Solo		Solo	
	Com cobre	Sem cobre	Com cobre	Sem cobre
	----- FT -----		-----FBC -----	
Sem inoculação	0,115 Ba	0,149 Ab	0,052 Ba	2,908 Ac
<i>R. clarum</i>	0,075 Bb	0,203 Aa	0,062 Ba	5,805 Aa
<i>S. pellucida</i>	0,058 Bb	0,114 Ac	0,059 Ba	4,042 Ab
CV (%)	12,52		9,21	

* Médias seguidas por letras iguais maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

Os efeitos da inoculação micorrízica na planta dependem da concentração de metais no solo, resalta-se que a absorção é aumentada quando a quantidade no solo está abaixo da concentração crítica para a simbiose, enquanto que acima deste ponto, a absorção e translocação para a parte aérea geralmente são inibidas (CHRISTIE, LI e CHEN, 2004). Ambrosini *et al.*, (2015) verificaram que a razão entre os níveis de Cu nas raízes e parte aérea das plantas de videira é de 6,9 no controle, enquanto que nos tratamentos com FMAs varia de 8,3 a 12,4, indicando que apenas uma pequena porção de Cu da raiz é translocada para a parte aérea. Nestas condições, também pode ocorrer a maior absorção de P pelas raízes, que é promovida pelos FMAs (ANDRADE, SILVEIRA e MAZZAFERA, 2010), induzindo a formação de compostos de fosfatos e metais menos móveis nas plantas, reduzindo assim, a

translocação de Cu para a parte aérea (SOARES e SIQUEIRA, 2008). Além disso, as plantas também podem ter estratégias naturais para diminuir o transporte do Cu e outros metais para a parte aérea, como a compartimentalização nos vacúolos, a quelação na membrana plasmática e a complexação intracelular por substâncias orgânicas, diminuindo os efeitos tóxicos (GÓMEZ-GALLEGO *et al.*, 2022; SABA *et al.*, 2013).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos no solo com cobre para o FBC, sendo maior no solo sem cobre e com as inoculações em relação ao tratamento testemunha (Tabela 9). Além da imobilização do metal no micélio extrarradicular, a redução da absorção de metal nas plantas micorrízicas pode ser atribuída a mudanças na solubilidade do metal mediadas por alterações na solução do solo nos tratamentos micorrizados (FERROL, TAMAYO e VARGAS, 2016). Desse modo, Gu *et al.*, (2017) verificaram que a inoculação do fungo *Funneliformis mosseae* em *Lolium perene* e *Festuca arundinacea* reduziu o fator de bioconcentração, encontrando valores menores que 1. Singh *et al.*, (2019) afirmam que os FMAs atuam como um biofiltro nas raízes e modulam a translocação direta de metais pesados do solo para a parte aérea (fator de bioacumulação) e raízes para a parte aérea (fator de translocação).

Sendo assim, pode-se considerar que os FMAs apresentaram resultado satisfatório para a redução da translocação de Cu para a parte aérea de *P. vulgaris* em solo contaminado pelo metal, apesar da cultura ter apresentado, em geral, baixa translocação, mesmo sem uso de inoculação. A espécie *S. pellucida* apresentou melhor desempenho quanto aos principais parâmetros morfológicos do feijão, bem como, proporcionou bons resultados para os teores de Cu no tecido vegetal e no solo.

4.6 CONCLUSÃO

A inoculação de *P. vulgaris* L. com os fungos *R. clarum* e *S. pellucida* promoveu a melhoria de parâmetros de desenvolvimento e produção das plantas cultivadas em solo contaminado com cobre.

Os FMAs *R. clarum* e *S. pellucida* proporcionaram a redução da disponibilidade de cobre em solo contaminado.

A espécie *S. pellucida* proporcionou maiores teores de cobre nas raízes e menores teores na parte aérea de feijão comum cultivado em solo contaminado pelo metal.

4.7 REFERÊNCIAS

- ADEYEMI, Nurudeen Olatunbosun *et al.* Alleviation of heavy metal stress by arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Glycine max* (L.) grown in copper, lead and zinc contaminated soils. **Rhizosphere**, v. 18, p. 100325, 2021.
- AGARWAL, ANAMIKA; SINGH, JASPAL; SINGH, A. P. Arbuscular mycorrhizal fungi and its role in sequestration of heavy metals. **Trends Biosci**, v. 10, n. 21, p. 4068-4077, 2017.
- AMBROSINI, Vítor Gabriel *et al.* Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on young vines in copper-contaminated soil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 1045-1052, 2015.
- ANAND, Kumar *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi as a potential biofertilizers for agricultural sustainability. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 90-107, 2022.
- ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D.; MAZZAFERA, P. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 22, p. 5381-5391, 2010.
- ANDREOLA, Daiane Sartori *et al.* Development of mycorrhizal soybean grown in copper-contaminated soil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 6SUPL2, p. 3617-3632, 2021.
- BAI, Bengia *et al.* Influence of *Glomus-Rhizobium* symbiosis on productivity, root morphology and soil fertility in garden pea in Himalayan acid Alfisol. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 47, n. 6, p. 787-798, 2016.
- BHANDARI, Purnima; GARG, Neera. Arbuscular mycorrhizal symbiosis: a promising approach for imparting abiotic stress tolerance in crop plants. In: **Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives**. Springer, Singapore, 2017. p. 377-402.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 722, de 1º de julho de 2022. Limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 06 de julho de 2022.
- BRUNDRETT, Mark 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, n. 1, p. 37-77, 2009.
- CARENHO, Rosilaine; ALVES, Lander de J.; SANTOS, Irailde da Silva. Arbuscular mycorrhizal fungi, interactions with heavy metals and rehabilitation of abandoned mine lands. In: **Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation**. Elsevier, 2018. p. 261-279.
- CERRENHO, Rosilaine; ALVES, Lander de J.; SANTOS, Irailde da Silva. Arbuscular mycorrhizal fungi, interactions with heavy metals and. In: PRASAD, Majeti Narasimba Vara; FAVAS, Paulo Jorge de Campos; MAITI, Subodh Kumar. **Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation**, p. 261, 2018.

CHRISTIE, Peter; LI, Xiaolin; CHEN, Baodong. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc. **Plant and Soil**, v. 261, n. 1, p. 209-217, 2004.

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**. SBRS – NRS, f376, 2016.

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.

DECHEN, Antonio Roque; NACHTIGALL, Gilmar Ribeiro. Elementos requeridos à nutrição de plantas. *In*: NOVAIS, Roberto Ferrreira; ALVAREZ V, Victor Hugo; BARROS, Nairam Felix de; FONTES, Renildo Lucio; CANTARUTTI, Reinaldo Bertola; NEVES, Julio Cesar Lima . (Org.). **Fertilidade do Solo**. 1 ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 91- 132.

DOUBKOVA, Pavla; SUDOVÁ, Radka. Limited impact of arbuscular mycorrhizal fungi on clones of *Agrostis capillaris* with different heavy metal tolerance. **Applied Soil Ecology**, v. 99, p. 78-88, 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. rev. Atual. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos; 1).

FALKER, Automação Agrícola Ltda. **Manual do medidor eletrônico de teor clorofila (CloroflOG/CFL 1030)**. Porto Alegre: [s.n.], 2008.

FERREIRA, Daniel Furtado. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.6. Lavras-MG: UFLA, 2019.

FERROL, Nuria; TAMAYO, Elisabeth; VARGAS, Paola. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. **Journal of experimental botany**, p. erw403, 2016.

GARDEZI, A. K. *et al.* Effect of *Glomus intraradices* associated with different genotypes of *Phaseolus vulgaris* (common bean) in two soil types. *In*: Callaos *et al.* **Proceedings. The 14th World Multiconference on Systemics, Cybernetics and Informatics. Orlando, Florida. USA II**. 2010. p. 5-10.

GARG, Neera; CHANDEL, Shikha. Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. *In*: **Sustainable agriculture volume 2**. Springer, Dordrecht, 2011. p. 907-930.

GÓMEZ-GALLEGO, Tamara *et al.* Impact of arbuscular mycorrhiza on maize P1B-ATPases gene expression and ionome in copper-contaminated soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 234, p. 113390, 2022.

- GONÇALVES, Gustavo Krüger *et al.* Respostas de mudas de videiras a adubação com cobre em solos de santana do livramento-RS. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 26378-26387, 2019.
- GU, Hai-Hong *et al.* The influences of arbuscular mycorrhizal fungus on phytostabilization of lead/zinc tailings using four plant species. **International Journal of Phytoremediation**, v. 19, n. 8, p. 739-745, 2017.
- HALL, J. áL. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of experimental botany**, v. 53, p. 1-11, 2002.
- HUGEN, Camila *et al.* Teores de Cu e Zn em perfis de solos de diferentes litologias em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 622-628, 2013.
- JIA-QI, Lang *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metals in rhizosphere soil, fibrous roots and rhizomes of *Paris polyphylla* var. yunnanensis. **Natural Product Research and Development**, v. 34, n. 8, p. 1374, 2022.
- JIMÉNEZ, Ildermaro J. *et al.* Efecto de hongos micorrízicos arbusculares y estiércol de bovino en el crecimiento inicial y pigmentación en *Capsicum frutescens* L. **Bioagro**, v. 29, n. 2, p. 137-144, 2017.
- KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological research**, v. 92, n. 4, p. 486, 1989.
- LI, Junmin *et al.* Arbuscular mycorrhiza fungi facilitate rapid adaptation of *Elsholtzia splendens* to copper. **Science of the Total Environment**, v. 599, p. 1462-1468, 2017.
- LISBÔA, Roberta de Moura *et al.* PARÂMETROS DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO A PARTIR DA ANÁLISE DO DESCARTE DE UM EFLUENTE SANITÁRIO. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica**, v. 14, n. 2, p. 804-816, 2021.
- LIU, Xiaohai *et al.* Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on contaminated sites and their potential accumulation capacity in Heqing, Yunnan. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 12, p. 1469-1474, 2008.
- LUO, Jie *et al.* Impact of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Funneliformis mosseae* on the Physiological and Defence Responses of *Canna indica* to Copper Oxide Nanoparticles Stress. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p. 513, 2022.
- MANYIWA, Trust; ULTRA JR, Venecio U. Soil Amendments and Arbuscular Mycorrhiza Influenced the Growth and Heavy Metal Accumulation of *Colospospermum Mopane* (Kirk Ex Benth.) In Heavy Metal Contaminated Soil. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 31, n. 1, p. 81-96, 2022.
- MARTINS, Camila Aparecida da Silva; *et al.* A dinâmica de metais-traço no solo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, p. 383-391, 2011.

MCGONIGLE, Terence P. *et al.* A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. **New phytologist**, v. 115, n. 3, p. 495-501, 1990.

MOREIRA, Fátima Maria de Souza; SIQUEIRA, José Oswaldo. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*, 5ª ed., UFLA: Lavras, 2006.

MORRISON, David A.; MORRIS, E. Charles. Pseudoreplication in experimental designs for the manipulation of seed germination treatments. **Austral Ecology**, v. 25, n. 3, p. 292-296, 2000.

MUTHUKUMAR, Thangavelu *et al.* Role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of acidity stress on plant growth. In: **Use of microbes for the alleviation of soil stresses, volume 1**. Springer, New York, NY, 2014. p. 43-71.

NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental chemistry letters**, v. 8, n. 3, p. 199-216, 2010.

NOVAIS, Cândido Barreto de *et al.* Inter-and intraspecific functional variability of tropical arbuscular mycorrhizal fungi isolates colonizing corn plants. **Applied Soil Ecology**, v. 76, p. 78-86, 2014.

PEDROSO, D. de F. *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi favor the initial growth of *Acacia mangium*, *sorghum bicolor*, and *Urochloa brizantha* in soil contaminated with Zn, Cu, Pb, and Cd. **bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 101, n. 3, p. 386-391, 2018.

RIDWAN, I. *et al.* Response of Soybean (*Glycine max* L.) to Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) applied with organic liquid fertilizer. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2020. p. 012114.

ROSA, Daniel José *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.

RUSCITTI, Marcela; ARANGO, María; BELTRANO, José. Improvement of copper stress tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 29, n. 1, p. 37-49, 2017.

SABA, Hasan; JYOTI, Prakash; NEHA, Singh. Mycorrhizae and phytochelators as remedy in heavy metal contaminated land remediation. **Int Res J Environ Sci**, v. 2, n. 1, p. 74-78, 2013.

SANTANA, Natielo Almeida *et al.* Earthworms and mycorrhization increase copper phytoextraction by *Canavalia ensiformis* in sandy soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, p. 109383, 2019.

SANTANA, Natielo Almeida *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, Humberto Gonçalves dos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília: Embrapa, 2018, 356p.

SHI, Wenguang *et al.* Physiological and molecular mechanisms of heavy metal accumulation in nonmycorrhizal versus mycorrhizal plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 4, p. 1087-1103, 2019.

SHI, Xiang *et al.* Seedling growth and metal accumulation of selected woody species in copper and lead/zinc mine tailings. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 2, p. 266-274, 2011.

SILVA, Silvana da; SIQUEIRA, José Oswaldo; SOARES, Cláudio Roberto Fonsêca Sousa. Fungos micorrízicos no crescimento e na extração de metais pesados pela braquiária em solo contaminado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1749-1757, 2006.

SINGH, Geetu *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi-assisted phytoextraction of toxic metals by *Zea mays* L. from tannery sludge. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 28, n. 8, p. 729-746, 2019.

SOARES, Cláudio RFS; SIQUEIRA, José 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.

SOLAIMAN, Zakaria M.; MURPHY, Daniel V.; ABBOTT, Lynette K. Biochars influence seed germination and early growth of seedlings. **Plant and soil**, v. 353, n. 1, p. 273-287, 2012.

TEDESCO, Marino. José *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995.

TORRES, Nazareth; ANTOLÍN, M. Carmen; GOICOECHEA, Nieves. Arbuscular mycorrhizal symbiosis as a promising resource for improving berry quality in grapevines under changing environments. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 897, 2018.

TURCHETTO, Ricardo *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi in wheat grown in copper contaminated soil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 4, p. 1579-1594, 2022.

YRUELA, Inmaculada. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 145-156, 2005.

ZHANG, Fengge *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, biochar and cadmium on the yield and element uptake of *Medicago sativa*. **Science of The Total Environment**, v. 655, p. 1150-1158, 2019.

5 CAPÍTULO 3: BIOCÁRVÃO E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO CULTIVO DE *Phaseolus vulgaris* L. EM SOLO CONTAMINADO COM COBRE

5.1 RESUMO

O cobre é considerado um micronutriente essencial para plantas e diversos organismos, no entanto seu excesso no solo, pode causar toxidez. Entre as alternativas de remediação de áreas contaminadas pelo metal têm-se o biocarvão que pode diminuir a sua disponibilidade no solo e os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que se associados às plantas reduzem os efeitos tóxicos e promovem a melhoria do desenvolvimento vegetal. Nesse contexto, o objetivo da pesquisa foi determinar o efeito da aplicação de biocarvão combinado com o uso de fungos micorrízicos arbusculares no cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. em solo contaminado com cobre. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 3 x 5 sendo, três inoculações de FMAs (Testemunha – sem inoculação; *Rhizoglyphus clarum* e *Scutellospora pellucida*) e cinco doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m m⁻¹ de solo seco) em solo com adição de Cu (1000 mg kg⁻¹), com oito repetições. Avaliou-se altura de plantas, parâmetros de produtividade, volume e área superficial específica de raiz, germinação de sementes, colonização micorrízica, massa seca da parte aérea e de raiz, teor de cobre na raiz, na parte aérea e no grão, teor de cobre disponível no solo e fatores de bioconcentração e de translocação de cobre na planta. O uso combinado de biocarvão e os fungos *R. clarum* e *S. pellucida* proporciona aumento na altura, porcentagem de germinação de sementes, massa seca aérea e de raízes e produtividade de grãos de plantas de feijão comum cultivado em solo contaminado. O teor de cobre disponível no solo, na raiz, na parte aérea e no grão de *P. vulgaris* e a translocação de Cu foram diminuídos através desta combinação.

Palavras-chave: Metal pesado. Contaminação. Remediação.

5.2 ABSTRACT

Copper is considered an essential micronutrient for plants and several organisms, however its excess in the soil can cause toxicity. Among the alternatives for remediation of areas contaminated by the metal are biochar, which can reduce its availability in the soil, and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which, when associated with plants, reduce toxic effects and promote improved plant development. In this context, the objective of the research was to determine the effect of applying biochar combined with the use of arbuscular mycorrhizal fungi in the cultivation of *Phaseolus vulgaris* L. in soil contaminated with copper. The experimental was completely randomized design (DIC) in a 3 x 5 factorial arrangement, with three inoculations of AMF (Control - without inoculation; *Rhizoglyphus clarum* and *Scutellospora pellucida*) and five doses of biochar (0, 0.5, 1, 1.5 and 2% m m⁻¹ of dry soil) in soil with addition of Cu (1000 mg kg⁻¹), with eight replications. Plant height, productivity parameters, root volume and specific surface area, seed germination, mycorrhizal colonization, shoot and root dry mass, copper content in the root, shoot and grain, copper content in available copper in the soil and bioconcentration and copper translocation factors in the plant. The combined use of biochar and the fungi *R. clarum* and *S. pellucida* increases height, percentage of seed germination, aerial and root dry mass and grain yield of common bean plants grown in contaminated soil. The available copper content in soil, root, shoot and grain of *P. vulgaris* and Cu translocation were decreased by this combination.

Keywords: Heavy metal. Contamination. Remediation.

5.3 INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) é considerado um micronutriente essencial para plantas e diversos organismos, pois participa de vários processos fisiológicos (FEKIAKOVA, CORNU e PICHAT *et al.*, 2015). Este metal pode ser absorvido do solo e atua na formação de membranas, cloroplastos e clorofila nas plantas (AHMAD *et al.*, 2015). No solo, o Cu pode ser encontrado em sua forma solúvel, trocável, grande fração pode estar adsorvida aos óxidos metálicos especificamente e ligada aos materiais orgânicos solúveis ou insolúveis, ou até precipitado (SANTANA, 2020), porém, quando presente em excesso no solo, cujo limite de Cu total em áreas agrícolas estabelecido na legislação é de 200 mg kg⁻¹ (CONAMA, 2009), pode ser fonte de contaminação ambiental (SHUTCHA *et al.*, 2015).

Os sintomas de toxidez por cobre nas plantas podem ser observados através da clorose, necrose, baixa produção de biomassa e morte (SANTANA, 2020), crescimento reduzido (ROSA *et al.*, 2014), redução da porcentagem de germinação de sementes (CHAÂBENE *et al.*, 2018). Nas raízes observa-se redução do crescimento, da ramificação, do comprimento e do engrossamento (YRUELA, 2005).

O uso de biocarvão como corretivo do solo tem sido considerado uma estratégia ambientalmente correta para melhorar a fertilidade do solo e reduzir os impactos negativos causados pelo excesso de contaminantes (GONZAGA *et al.*, 2019). O efeito deste material orgânico na fertilidade do solo está relacionado à sua alta porosidade, área superficial específica e CTC, presença de grupos funcionais oxigenados em superfície que aumentam a capacidade de retenção de água e nutrientes no solo, além disso, pode promover a remediação de solos contaminados com cobre através de processos de adsorção química e fisissorção, melhorando o desenvolvimento das plantas (GOMEZ-EYLES e GHOSH, 2018; GONZAGA *et al.*, 2022; XIA *et al.*, 2019), bem como o aumento do pH ocasionado pelo biocarvão pode reduzir indiretamente a disponibilidade de metais no solo (HUANG *et al.*, 2018; NGUYEN *et al.*, 2017).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) formam uma associação simbiótica com cerca de 80% das plantas cultivadas (ZHANG *et al.*, 2019), sobretudo aquelas de interesse ambiental para a remediação de áreas contaminadas com metais pesados (STÜRMER e SIQUEIRA, 2006). Os FMAs têm a capacidade de aumentar a resistência de plantas ao stress ocasionado pelo excesso de cobre no solo (FERREIRA *et al.*, 2015), possibilitando seu crescimento e produção. Vários fatores são responsáveis pela maior tolerância das plantas micorrizadas ao excesso de Cu, como a manutenção da integridade de membranas celulares, o

acúmulo em órgãos não vitais, retenção do metal no micélio dos fungos e também a fixação em fosfatos na célula (RUSCITTI, ARANGO e BELTRANO, 2017).

Estudos apontam plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) colonizadas pelo FMA da espécie *Glomus clarum*, são induzidas ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes que são responsáveis pela maior resistência a estresses abióticos, como o excesso de metais pesados (LAMBAIS, RÍOS-RUIZ e ANDRADE, 2003). O biocarvão adicionado ao solo também possui a capacidade de imobilização de cobre e indisponibilização para as plantas de feijão, contribuindo para o desenvolvimento vegetal (SILVA *et al.*, 2017; VANDIONANT *et al.*, 2019). Além disso, o biocarvão associado aos FMAs mantém a efetiva colonização dos fungos inoculados nas raízes de plantas em diferentes condições de solo (MATOS *et al.*, 2018) e a presença de micorrizas arbusculares em solos tratados com o biocarvão pode potencializar os benefícios no solo e a produtividade de plantas (BUDI e SETYANINGSIH, 2013).

Nesse contexto, o objetivo da pesquisa foi determinar o efeito da aplicação de biocarvão combinado com o uso de fungos micorrízicos arbusculares no cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. em solo contaminado com cobre.

5.4 MATERIAIS E MÉTODOS

5.4.1 Local

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Ciências Agrônômicas e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus de Frederico Westphalen, entre os meses de outubro de 2020 e março de 2021, durante 150 dias. O solo utilizado no experimento foi caracterizado como um Latossolo Vermelho (SANTOS, 2018), coletado em área de campo natural na camada de 0-20 cm. Esse solo foi seco ao ar e peneirado, após autoclavado à 121 °C, em três ciclos de 30 minutos para eliminação de possíveis patógenos. Após, foi retirada uma amostra para a determinação de atributos químicos e físicos, conforme metodologia descrita por Embrapa (1997) para textura e Tedesco *et al.*, (1995) para demais atributos (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização química e física do solo

pH*	V	MOS	Argila	CTC	Ca	Mg	Al	H+Al
-----	---	-----	--------	-----	----	----	----	------

H ₂ O	----- % -----			pH 7,0	----- cmolc L ⁻¹ -----			
5,0	10,3	1,5	79	12,2	1,0	0,2	1,5	10,9
P	K	Cu	Zn	S	B	Mn		
----- mg kg ⁻¹ -----								
2,0	21,0	8,4	0,2	15,8	0,18	3,5		

*pH: potencial de hidrogênio; V: saturação por bases; MOS: matéria orgânica do solo; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; H+Al: acidez potencial; P: fósforo; K: potássio; Cu: cobre; Zn: zinco; S: enxofre; B: boro; Mn: manganês. Fonte: Autor (2023).

O biocarvão utilizado foi de produção própria utilizando equipamento desenvolvido na universidade para a pirólise de resíduos de eucalipto (galhos finos), com tempo de pirolização de duas horas, em temperatura de 350 °C e em condições de baixo fluxo de oxigênio (RÓZ *et al.*, 2015). Após a fabricação e padronização de tamanho em 2 mm das partículas do biocarvão, foram retiradas amostras para a caracterização, conforme a tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização do biocarvão

pH	C – Orgânico	Ca	Mg	P	K	S	Cu	Zn	Fe	Mn
H ₂ O	----- % (m m ⁻¹) -----					----- mg kg ⁻¹ -----				
8,0	42,53	0,13	0,15	0,10	0,45	1,71	12,0	23,0	41,3	150,0

*pH: potencial de hidrogênio; C - Orgânico: carbono orgânico; Ca: cálcio; Mg: magnésio; P: fósforo; K: potássio; S: enxofre; Cu: cobre; Zn: zinco; Mn: manganês. Fonte: Autor (2023).

Os isolados de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) das espécies *Rhizoglossum clarum* e *Scutellospora pellucida* foram obtidos junto à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Agrobiologia de Seropédica-RJ.

5.4.2 Delineamento

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 3 x 5) sendo, três inoculações de FMAs (Testemunha – sem inoculação; *Rhizoglossum clarum* e *Scutellospora pellucida*) e cinco doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m m⁻¹ de solo seco) em solo com adição de Cu (1000 mg kg⁻¹), com oito repetições.

5.4.3 Instalação e condução do experimento

5.4.3.1 Casa de vegetação

Primeiramente foi realizada a correção da acidez do solo com calcário dolomítico (PRNT 85%) e dos níveis de macro e micronutrientes através da utilização de fertilizante mineral formulado, conforme recomendação para cultura do feijão (CQFS, 2016).

As amostras de solo foram condicionadas em vasos plásticos com capacidade de 3,5 litros, numa massa total de 4 kg, para posterior aplicação dos tratamentos e a semeadura do feijão comum.

A contaminação do solo com cobre foi realizada através de uma solução de sulfato de cobre (CuSO_4) adicionada e misturada ao solo, na dose de 1000 mg kg^{-1} (Cu^{2+}), trinta dias antes da semeadura do feijão nos vasos, para possibilitar tempo suficiente para estabilização das reações químicas.

O biocarvão foi aplicado manualmente na superfície do solo quinze dias antes da semeadura do feijão, que condiz ao tempo mínimo necessário para a estabilização das reações químicas (Adaptado de MARCO *et al.*, 2021).

As sementes utilizadas são da cultivar IPR Tuiuiú cedidas pelo Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), as quais foram previamente desinfetadas com solução hipoclorito de sódio 2 %, por 15 minutos e lavadas em água corrente por 5 minutos. A semeadura foi realizada no mês de dezembro de 2020 em uma profundidade de 4 cm e com o total de três sementes por vaso. A inoculação das sementes com os isolados fúngicos foi feita no sulco no momento da semeadura e a dosagem utilizada foi de 100 esporos de FMAs por dose, sendo que foi aplicada uma dose por unidade experimental (vaso).

A umidade do solo foi mantida próxima a capacidade de campo durante todo o período de condução do experimento, desde o condicionamento do solo nos vasos até o final do ciclo de 90 dias do feijão. A irrigação foi feita manualmente através da aplicação de uma lâmina de água de 8 mm diários.

Foi feita também, a adubação com nitrogênio (N) de cobertura na cultura, através da utilização de ureia 45% de N no estágio fenológico de V4 aplicando o equivalente a 50 kg de N por hectare. Durante o ciclo, também foi realizado o manejo fitossanitário e demais cuidados necessários para o feijão comum.

5.4.3.2 Testes de germinação

Para os testes de germinação, 5 gramas de solo seco ao ar de cada tratamento descrito no item 5.4.2. foram transferidos para placas de Petri sobre uma camada de papel filtro de umedecido com 20 mL de água deionizada. Cada placa de Petri recebeu quinze sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) que foram previamente desinfectadas com solução hipoclorito de sódio 2%, por 15 minutos e lavadas em água corrente por 5 minutos (SOLAIMAN *et al.*, 2012). O procedimento foi realizado com quatro repetições, conforme procedimento descrito por Morrison e Morris (2000). Todas as placas de Petri foram cobertas com tampas e incubadas a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas durante cinco dias.

5.4.4 Avaliações

5.4.4.1 Avaliações morfológicas

As avaliações morfológicas foram realizadas conforme descritas no item 3.4.4.1 (Capítulo I).

5.4.4.2 Colonização micorrízica (CM)

A avaliação de porcentagem de colonização micorrízica foi realizada conforme descrito no item 4.4.4.2 (Capítulo II).

5.4.4.3 Porcentagem de germinação de sementes (GS)

A avaliação de germinação de sementes foi realizada conforme descrito no item 3.4.4.2 (Capítulo I).

5.4.4.4 Teor de cobre disponível no solo

Os teores de cobre disponíveis foram realizados com a solução extratora Mehlich-1 a qual atua por dissolução ácida, diante da presença dos ácidos sulfúrico e clorídrico (SOBRAL *et al.*, 2013).

5.4.4.5 Teor de cobre no tecido vegetal

A determinação do cobre no tecido vegetal foi realizada pelo método de digestão nítrico-perclórica (3:1) e determinação em espectrofotometria de absorção atômica, conforme descrito por (MIYAZAWA *et al.*, 2009) em amostras da MSPA, MSR e grãos separadas e moídas em moinho tipo Wiley com peneira de malha de 10 mesh.

5.4.4.6 Fatores de translocação (FT) e bioconcentração (FBC)

As avaliações dos fatores de translocação e de bioconcentração foram realizadas conforme descrito no item 3.4.4.5 (Capítulo I).

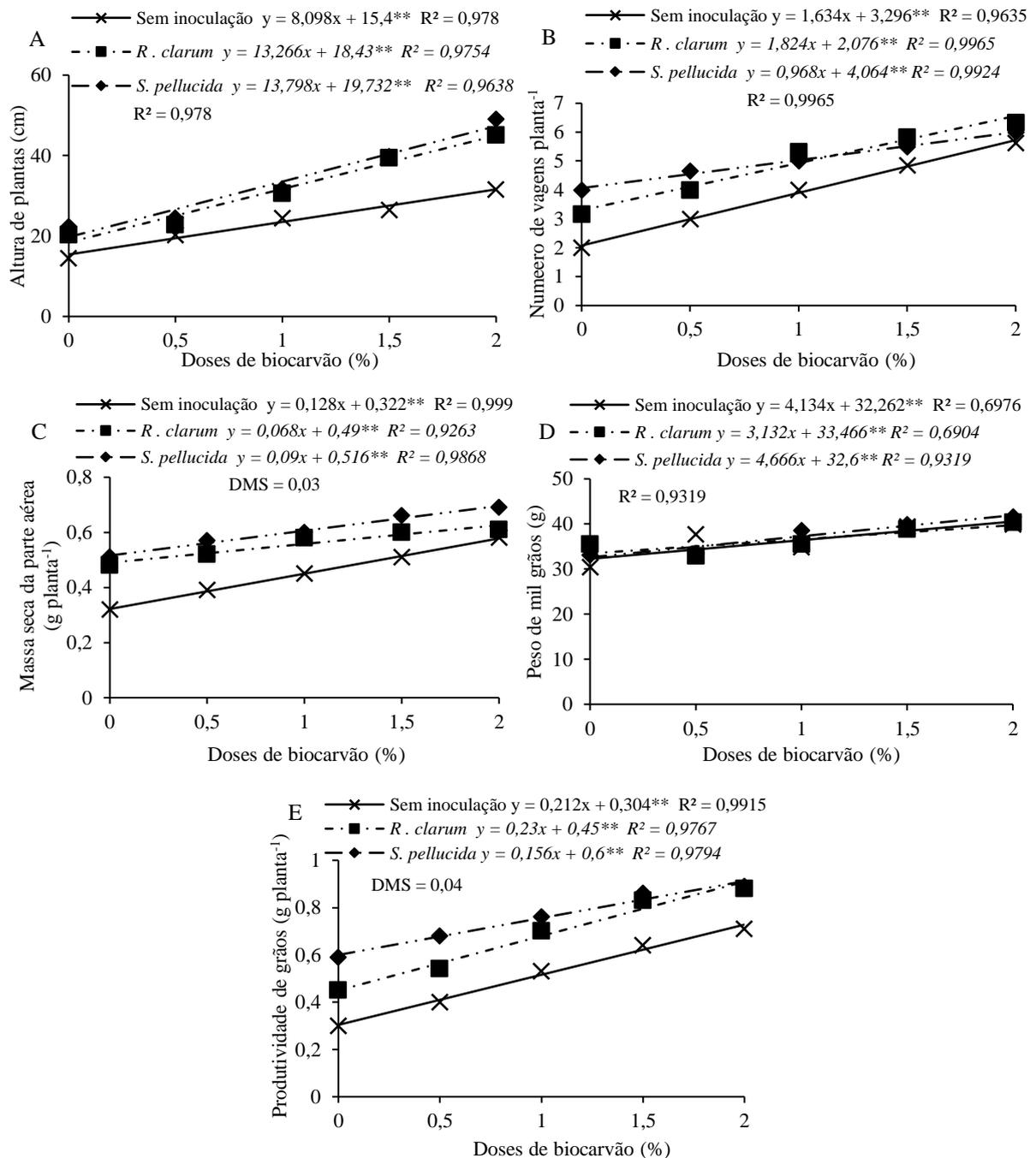
5.4.5 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e constatado efeito significativo foram realizados testes complementares através de teste de Tukey para fatores qualitativos e de regressão para fatores quantitativos, com o auxílio do software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2019), sendo que em todos os casos foi utilizado 5% de probabilidade de erro.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados evidenciaram interação significativa entre a inoculação com FMAs e doses de biocarvão para altura de plantas, número de vagens por planta, massa seca da parte aérea, peso de mil grãos e produtividade de grãos do feijão comum (Figura 1). A altura de plantas aumentou linearmente com as doses de biocarvão em 118, 122 e 120% para os tratamentos sem inoculação, inoculados com *R. clarum* e *S. pellucida*, respectivamente, sendo que as inoculações foram superiores ao tratamento sem inoculação (Figura 1A). O uso combinado de FMAs e biocarvão em solo contaminado por metais pesados produziu efeito positivo no crescimento do milho (*Zea mays*) e na biomassa da parte aérea chegando a ser 9,8 vezes maior que a do controle (ZHUO *et al.*, 2020; PICCOLLA *et al.*, 2015). A combinação de biocarvão com *Rhizophagus fasciculatus* ou *Rhizophagus irregularis* em solo com excesso de alumínio, resultou em maior crescimento de *Tamarindus indica* L. (NDIATE, QUN e NKOH, 2022).

Figura 1 - Altura de plantas (A), número de vagens por planta (B) Massa seca da parte aérea (C), peso de mil grãos (D) e produtividade de grãos (E) de feijão comum cultivado em solo contaminado com cobre (1000 mg kg^{-1}), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*) e com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m^{-1})



** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

O número de vagens por planta de feijão aumentou de forma linear com o uso do biocarvão no solo e as inoculações com *R. clarum* e *S. pellucida* resultaram em maior NVP se comparadas ao tratamento sem inoculante (Figura 1B). Estudos apontam que a aplicação de

biocarvão estimula a maior taxa de colonização micorrízica e conseqüentemente maior rendimento de soja (WATHIRA, WACHIRA e OKOTH, 2016) e trigo (CURAQUEO *et al.*, 2021).

A massa seca da parte aérea e a produtividade de grãos de *P. vulgaris* L. aumentaram linearmente com o uso das doses de biocarvão no solo. O aumento na MSPA foi de 81, 27 e 35% e na PG de 137, 96 e 51% para os tratamentos sem inoculação, inoculados com *R. clarum* e *S. pellucida*, respectivamente, sendo as inoculações foram superiores ao tratamento não inoculado em ambas variáveis, com destaque para a *S. pellucida* que apresentou melhor desempenho em geral (Figura 1C e Figura 1E). Pesquisas apontam aumento significativo da MSPA de *Senna occidentalis* quando inoculado com FMAs em combinação com aplicação de biocarvão em solo contaminado por metais pesados (GUO e LI, 2019). Também foi relatado incremento na biomassa da parte aérea de *Guazuma ulmifolia* em solo de mineração (QUIROZ-MOJICA *et al.*, 2021), enquanto que em *Theobroma cacao* L. a MSPA aumentou em torno de 15% (GANGAN, CORTES, REAÑO, 2019), demonstrando o efeito positivo nas plantas.

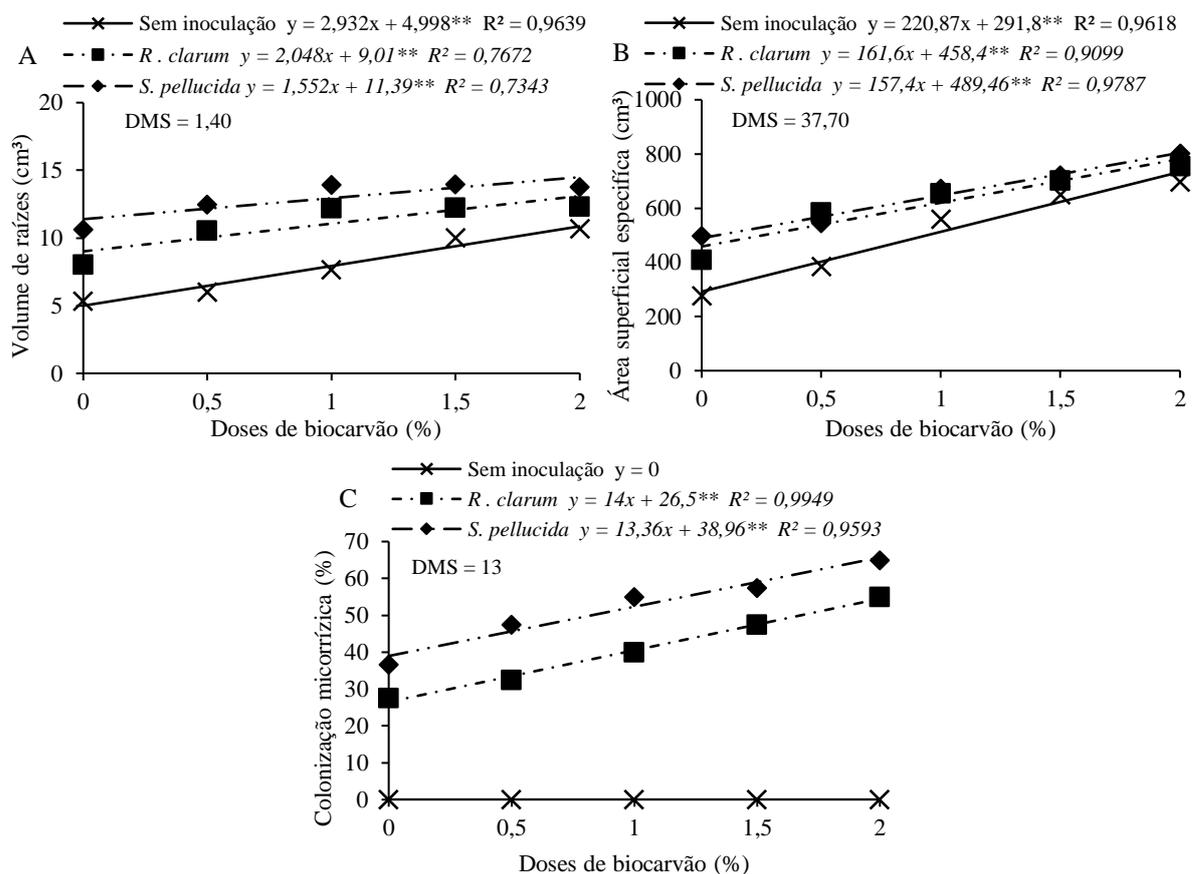
O peso de mil grãos do feijão comum aumentou linearmente com as doses de biocarvão adicionadas no solo em 31, 14 e 26% para os tratamentos sem inoculação, inoculados com *R. clarum* e *S. pellucida*, respectivamente, porém não diferindo entre si (Figura 1D). Um estudo com biocarvão aponta que o rendimento geral de grãos de trigo é aumentado com doses altas aplicadas, que também influenciam positivamente na colonização micorrízica em solos ácidos com alto teor de alumínio disponível (CURAQUEO *et al.*, 2021).

Houve interação significativa entre os fatores de variação para as variáveis volume e área superficial específica de raízes de *P. vulgaris*, evidenciando aumento linear significativo com as doses de biocarvão, sendo maior nos tratamentos com inoculação (Figura 2). A partir de estudos realizados para analisar a eficiência de biocarvão e FMAs em solo contaminados por metais pesados, ocorreu aumento significativo na ASE de raízes de *Cassia occidentalis* (GUO *et al.*, 2018). Maiores áreas de superfície acompanhadas por maior colonização micorrízica foram descritas em *Allium porrum* L. cultivada em solo com aplicação de biocarvão (HAN, DOUDS e BOATENG, 2016). Além disso, a adição de biocarvão e *Rhizophagus clarus* melhorou o comprimento, volume e área de superfície da raiz de *Zea mays* em 32 a 61% no solo contaminado pelo metal cádmio (RAFIQUE *et al.*, 2019).

A colonização micorrízica do feijão aumentou linearmente com as doses de biocarvão no solo, com destaque para o FMA *S. pellucida*, ressaltando que não houve CM no tratamento sem inoculação (Figura 2C). Esse resultado corrobora os de Schiavo *et al.* (2010), que não

observaram CM nas plantas não inoculadas. Estudos apontam que solos contaminados com cobre tratados com 1% m m⁻¹ de biocarvão derivado de casca de aveia promovem o aumento em até 3 vezes a colonização radicular por FMAs (MEIER *et al.*, 2017). Em estudo sobre o efeito de biocarvão e FMAs em *Senna occidentalis* solo contaminado por metais pesados, a adição de biocarvão aumentou significativamente a taxa de colonização micorrízica quando comparado com o tratamento controle (sem biocarvão) (GUO e LI, 2019).

Figura 2 – Volume de raízes (A), área superficial específica (B) e colonização micorrízica (C) de feijão comum cultivado em solo contaminado com cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*) e com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m m⁻¹)

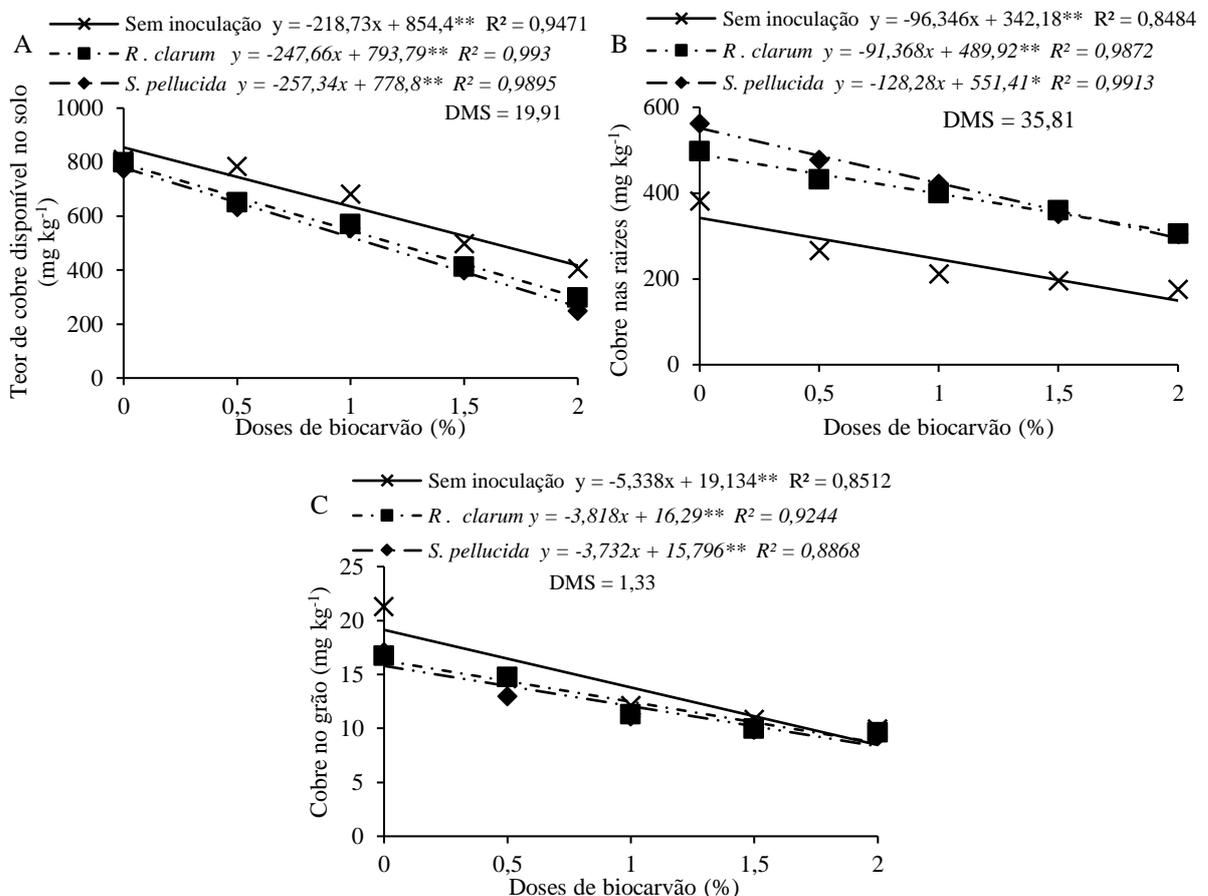


** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

Houve interação significativa entre os fatores de variação para o teor de Cu disponível no solo, teor de Cu nas raízes e nos grãos de *P. vulgaris* (Figura 3). Nota-se redução linear de 99, 168 e 213% no cobre disponível para os tratamentos sem inoculação, inoculados com *R. clarum* e *S. pellucida*, respectivamente, com as doses de biocarvão aplicadas no solo e os tratamentos inoculados resultaram em menores teores no solo (Figura 3A). Estudos apontam

que a utilização de FMAs e biocarvão combinados aumentam a imobilização de metais pesados em solo cultivado com *Iris pseudacorus* (CHEN *et al.*, 2022).

Figura 3 – Teor de cobre disponível no solo (A), teor de cobre nas raízes (B), e no grão (C) de feijão comum cultivado em solo contaminado com cobre (1000 mg kg^{-1}), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*) e com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m^{-1})



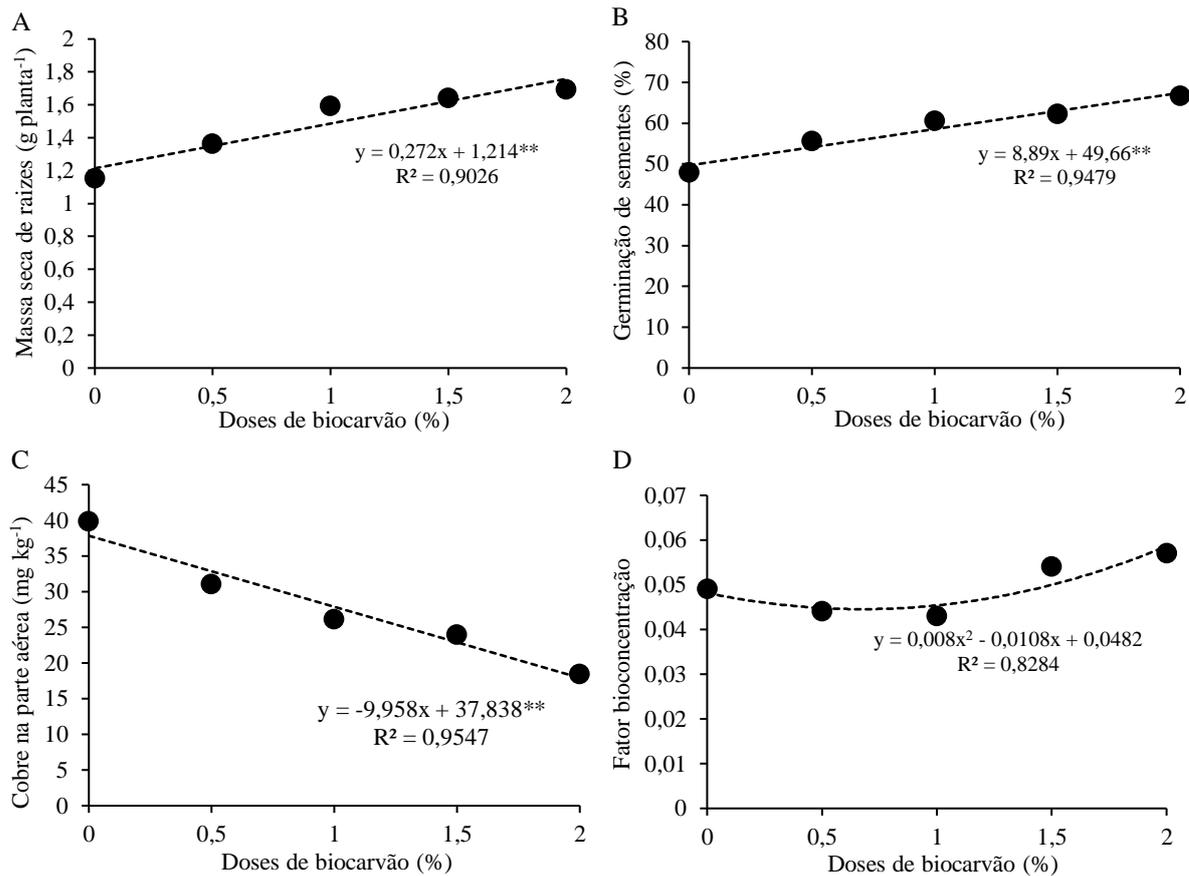
** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

O teor de cobre nas raízes de feijão comum apresentou redução linear com o uso de doses crescentes de biocarvão, no entanto, os tratamentos inoculados com *R. clarum* e *S. pellucida* resultaram em maiores teores se comparados ao não inoculado (Figura 3B). Estudos apontam que plantas micorrízicas de *Lotus corniculatus* L. cultivadas em solo com biocarvão apresentam redução dos teores de cobre na parte aérea e na raiz (ZHAO, CHEN e XIAO 2022). Sobre isso, os fungos possuem a capacidade de retenção do metal nas raízes e reduzem a translocação para a parte aérea da planta (RUSCITTI, ARANGO e BELTRANO, 2017), além de que o biocarvão causa a redução da disponibilidade de metais no solo (HUANG *et al.*, 2018).

Já para o CuG, as inoculações proporcionaram menores teores se comparados ao tratamento não inoculado (Figura 3C). O limite máximo tolerado (LMT) de 10 mg kg⁻¹ de Cu nos grãos de feijão destinado a alimentação não pode ser excedido (BRASIL, 2022). Neste caso, observa-se que no experimento sem inoculação qualquer dose de biocarvão acima de 1,71% m m⁻¹ resulta em teor de Cu no grão menor que o LMT, o mesmo ocorre com doses acima de 1,64 e 1,55% m m⁻¹ no feijão inoculado com *R. clarum* e *S. pellucida*, respectivamente. Estudos com chumbo (Pb) demonstram redução no teor deste metal nos grãos de cevada abaixo do limite crítico, através do uso combinado de biocarvão e FMAs em solo contaminado, devido a adsorção do Pb no biocarvão e a imobilização no micélio fúngico e na glomalina produzida pelos FMAs (KHAN *et al.*, 2020).

Não houve interação entre os fatores de variação para o número de grãos por vagem, massa seca de raízes, porcentagem de germinação de sementes, teor de cobre na parte aérea e fator de bioconcentração de feijão comum cultivado em solo contaminado com cobre (Figura 4), sendo que não houve efeito significativo das doses de biocarvão para o NGV, apresentando a média de 4,34.

Figura 4 – Efeito simples das doses de biocarvão (0, 0.5, 1, 1.5 e 2% m m⁻¹) na massa seca de raízes (A), na porcentagem de germinação de sementes (B), no teor de cobre na parte aérea (C) e no fator de bioconcentração (D) de feijão comum cultivado em solo contaminado com cobre (1000 mg kg⁻¹).



** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

A MSR e a GS do feijão aumentaram linearmente em 47% e 40% com as doses de biocarvão aplicadas no solo (Figura 4A e Figura 4B). O efeito do biochar na germinação das sementes de *Guazuma ulmifolia* em solo de mineração de carvão variou dependendo da concentração, pois a maior porcentagem de GS (90%) foi obtida quando foi aplicado 1% de biocarvão (QUIROZ-MOJICA *et al.*, 2021), neste mesmo estudo, a combinação de biocarvão e FMAs não resultaram em diferença significativa para o crescimento radicular das plantas. Outro estudo demonstra que massa seca da raiz de ervilha aumentou em 30% e 52% após tratamentos com biocarvão e micorrizas, respectivamente, em solo contaminado com arsênio (ALAM *et al.*, 2019).

Houve redução linear significativa para o teor de Cu na parte aérea de feijão comum no efeito simples do uso do biocarvão em solo contaminado (Figura 4C). Estudos demonstram que o biocarvão causou diminuição nos teores de cobre na parte aérea de *Lotus corniculatus* L. (ZHAO, CHEN e XIAO 2022) e em *Chenopodium quinoa*, sendo que os mecanismos de melhoria deste parâmetro envolvem a adsorção de Cu na superfície do biocarvão, diminuindo a

disponibilidade no solo e conseqüentemente o efeito tóxico (BUSS, KAMMANN e KOYRO, 2012).

O efeito de doses de biocarvão no fator de bioconcentração de Cu nas plantas de feijão evidenciou função quadrática com ponto mínimo de FBC (0,041) na dose de 0,67% m m⁻¹ de biocarvão (Figura 4D). Pesquisas demonstram redução da bioconcentração de Cu em plantas de colza cultivada em solo contaminado com cobre e com adição de 2% m m⁻¹ de biocarvão (MUNIR *et al.*, 2020). O FBC em geral foi menor que 1, indicando que a concentração de metais foi restrita às raízes do feijão com baixa translocação para a parte aérea das plantas (RASHID *et al.*, 2023). Não houve efeito simples significativo dos inóculos para o FBC em raízes e parte aérea.

O efeito simples das inoculações com FMAs evidenciam que o NGV, MSR e GS são maiores quando o feijão é inoculado com *R. clarum* e *S. pellucida*, em relação a testemunha sem inoculação (Tabela 3). Em estudo com *Canavalia ensiformis* (L.) cultivado em solo contaminado com cobre concluiu-se que os FMAs proporcionaram 22% de acréscimo na biomassa de raízes (ANDRADE *et al.*, 2010). Os componentes de produtividade, entre eles o NGV de feijão comum aumentam com a inoculação micorrízica (TAMAYO-AGUILAR *et al.*, 2021). Para a germinação de sementes, há indícios que os FMAs podem contribuir com este parâmetro em diversas espécies de plantas, no entanto, não está claro na literatura quais os mecanismos responsáveis por esta melhoria em solos contaminados por metais (BENNETT e MEEK, 2020).

Tabela 3 – Número de grãos por vagem (NGV), massa seca de raízes (MSR), porcentagem de germinação de sementes (GS) e teor cobre na parte aérea (CuPA) de feijão comum cultivado em solo contaminado com cobre (1000 mg kg⁻¹), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglossus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S.*

Solo	NGV	MSR (g planta ⁻¹)	GS (%)	CuPA (mg kg ⁻¹)
Sem inoculação	3,68 b*	1,35 c	50,33 b	31,30 a
<i>R. clarum</i>	4,72 a	1,49 b	60,00 a	27,66 b
<i>S. pellucida</i>	4,61 a	1,61 a	65,33 a	24,69 c
CV (%)	18,27	2,66	20,76	7,62

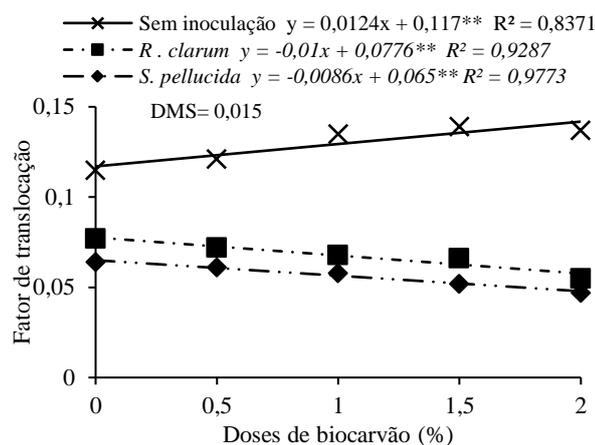
* Médias seguidas por letras iguais minúsculas na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de

Tukey a 5% de probabilidade de erro. Fonte: Autor (2023).

O teor de cobre na parte aérea do feijão comum foi significativamente menor quando inoculado com os isolados *R. clarum* e *S. pellucida* (Tabela 3). Pesquisas indicam que as micorrizas diminuem as concentrações de Cu nos tecidos aéreos de *Canavalia ensiformis* (L.) e promovem maior acúmulo de biomassa em solo contaminado (ANDRADE *et al.*, 2010).

Houve interação significativa entre os FMAs e doses de biocarvão para o fator de translocação de Cu das raízes para a parte aérea de *P. vulgaris*, a qual evidenciou-se redução linear para os tratamentos inoculados com *R. clarum* e *S. pellucida* e uso de doses de biocarvão, enquanto o tratamento não inoculado apresentou aumento linear significativo com a aplicação das doses de biocarvão (Figura 7). A combinação de biocarvão e inoculação micorrízica ocasiona aumento na absorção de cobre pelas raízes e induz um efeito de barreira que reduz a transferência de Cu das raízes para a parte aérea (GUO e LI, 2019).

Figura 7 – Fator de translocação (FT) de feijão comum cultivado em solo contaminado com cobre (1000 mg kg^{-1}), sem inoculação e inoculado com *Rhizoglyphus clarum* (*R. clarum*) e *Scutellospora pellucida* (*S. pellucida*) e com diferentes doses de biocarvão (0, 0,5, 1, 1,5 e 2% m m^{-1})



** Significativo a 5%. Fonte: Autor (2023).

5.6 CONCLUSÃO

O uso combinado de biocarvão e fungos micorrízicos arbusculares proporciona aumento na altura, porcentagem de germinação de sementes, massa seca aérea e de raízes e produtividade de grãos de plantas de feijão comum cultivado em solo contaminado.

O teor de cobre disponível no solo, na raiz, na parte aérea e no grão de feijão comum é menor através do uso de biocarvão e da inoculação com *R. clarum* e *S. pellucida*.

A translocação de Cu para a parte aérea de *P. vulgaris* foi menor quando feito o uso combinado de biocarvão e FMAs em solo contaminado.

5.7 REFERÊNCIAS

AGGANGAN, Nelly S.; CORTES, Angelbert D.; REAÑO, Consorcia E. Growth response of cacao (*Theobroma cacao* L.) plant as affected by bamboo biochar and arbuscular mycorrhizal

fungi in sterilized and unsterilized soil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101347, 2019.

AHMAD, N. *et al.* Effect of copper and zinc on the in vitro regeneration of *Rauvolfia serpentina*. **Biologia plantarum**, v. 59, p. 11-17, 2015.

ALAM, Mohammad Zahangeer *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi, selenium, sulfur, silica-gel and biochar reduce arsenic uptake in plant biomass and improve nutritional quality in *Pisum sativum*. **BioRxiv**, 2019.

ANDRADE, Sara A. L. *et al.* Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, n. 2, p. 198-207, 2010.

BENNETT, Alison E.; MEEK, Heiler C. The influence of arbuscular mycorrhizal fungi on plant reproduction. **Journal of chemical ecology**, v. 46, p. 707-721, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: DF, 2009, 365p.

BUDI, Sri Wilarso; SETYANINGSIH, Luluk. Arbuscular mycorrhizal fungi and biochar improved early growth of neem (*Melia azedarach* Linn.) seedling under greenhouse conditions. **Jurnal Manajemen Hutan Tropika**, v. 19, n. 2, p. 103-110, 2013.

BUSS, Wolfram; KAMMANN, Claudia; KOYRO, Hans-Werner. Biochar reduces copper toxicity in *Chenopodium quinoa* Willd. in a sandy soil. **Journal of environmental quality**, v. 41, n. 4, p. 1157-1165, 2012.

CHAÂBENE, Zayneb *et al.* Copper toxicity and date palm (*Phoenix dactylifera*) seedling tolerance: monitoring of related biomarkers. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 3, p. 797-806, 2018.

CHEN, Zhongbing *et al.* Immobilization of chromium enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi in semi-aquatic habitats with biochar addition. **Journal of Hazardous Materials**, v. 439, p. 129562, 2022.

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, f376, 2016.

CONAMA. **Resolução n° 420. De 28 de dezembro de 2009**. Acesso em: 25 janeiro de 2022.

CURAQUEO, Gustavo *et al.* Effects of biochar amendment on wheat production, mycorrhizal status, soil microbial community, and properties of an Andisol in Southern Chile. **Field Crops Research**, v. 273, p. 108306, 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. rev. Atual. Rio de Janeiro, 1997. 212p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos; 1).

FEKIACOVA, Z.; CORNU, S.; PICHAT, S. Tracing contamination sources in soils with Cu and Zn isotopic ratios. **Science of the Total Environment**, v. 517, p. 96-105, 2015.

FERREIRA, Daniel Furtado. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.6. Lavras-MG: UFLA, 2019.

FERREIRA, Paulo Ademar Avelar *et al.* *Rhizophagus clarus* and phosphate alter the physiological responses of *Crotalaria juncea* cultivated in soil with a high Cu level. **Applied Soil Ecology**, v. 91, p. 37-47, 2015.

GOMEZ-EYLES, José L.; GHOSH, Upal. Enhanced biochars can match activated carbon performance in sediments with high native bioavailability and low final porewater PCB concentrations. **Chemosphere**, v. 203, p. 179-187, 2018.

GONZAGA, Maria Isidoria Silva *et al.* Biochar increases plant water use efficiency and biomass production while reducing Cu concentration in *Brassica juncea* L. in a Cu-contaminated soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 183, p. 109557, 2019.

GONZAGA, Maria Isidória Silva *et al.* Copper uptake, physiological response, and phytoremediation potential of *Brassica juncea* under biochar application. **International Journal of Phytoremediation**, v. 24, n. 5, p. 474-482, 2022.

GUO, XiongFei *et al.* Effects of biochar and arbuscular mycorrhizal fungi on soil nutrients and growth of *Cassia occidentalis* under heavy metal contamination. **Acta Prataculturae Sinica**, v. 27, n. 11, p. 150-161, 2018.

GUO, Xiongfei; LI, Huashou. Effects of iron-modified biochar and AMF inoculation on the growth and heavy metal uptake of *Senna occidentalis* in heavy metal-contaminated soil. **Pol J Environ Stud**, v. 28, n. 4, p. 2611-2621, 2019.

HAN, Yanxue; DOUDS, JR, David D.; BOATENG, Akwasi A. Effect of biochar soil-amendments on *Allium porrum* growth and arbuscular mycorrhizal fungus colonization. **Journal of plant Nutrition**, v. 39, n. 11, p. 1654-1662, 2016.

HUANG, Peng *et al.* Effects of metal ions and pH on ofloxacin sorption to cassava residue-derived biochar. **Science of the Total Environment**, v. 616, p. 1384-1391, 2018.

JORGE, Lúcio André de Castro; SILVA, Daniel José da Cunha Bueno. **Safira: Manual de utilização**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2010.

KHAN, Muhammad Asaf *et al.* Associative effects of lignin-derived biochar and arbuscular mycorrhizal fungi applied to soil polluted from Pb-acid batteries effluents on barley grain safety. **Science of the Total Environment**, v. 710, p. 136294, 2020.

KOSKE, R. E.; GEMMA, J. N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological research**, v. 92, n. 4, p. 486, 1989.

LAMBAIS, Marcio Rodrigues; RÍOS-RUIZ, Winston Franz; ANDRADE, Robinson Moresca de. Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 160, n.2, p. 421-428, 2003.

LIU, Xiaohai *et al.* Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on contaminated sites and their potential accumulation capacity in Heqing, Yunnan. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 12, p. 1469-1474, 2008.

MARCO, Rudinei De *et al.* *Erythrina crista-galli* L. e turfa na fitorremediação de cobre no solo. *Ciência Florestal*, v. 31, p. 475-490, 2021.

MATOS, Ellen Conceição T. de *et al.* Espectroscopia fotoacústica para analisar a fertilidade de solos tratados com biochar e micorriza. **Química Nova**, v. 41, p. 989-998, 2018.

MCGONIGLE, Terence P. *et al.* A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. **New phytologist**, v. 115, n. 3, p. 495-501, 1990.

MEIER, Sebastián *et al.* Effects of biochar on copper immobilization and soil microbial communities in a metal-contaminated soil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 17, p. 1237-1250, 2017.

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

MORRISON, David A.; MORRIS, E. Charles. Pseudoreplication in experimental designs for the manipulation of seed germination treatments. **Austral Ecology**, v. 25, n. 3, p. 292-296, 2000.

MUNIR, Mehr Ahmed Mujtaba *et al.* Contrasting effects of biochar and hydrothermally treated coal gangue on leachability, bioavailability, speciation and accumulation of heavy metals by rapeseed in copper mine tailings. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 191, p. 110244, 2020.

NDIATE, Ndiaye Ibra; QUN, Cai Li; NKOI, Jackson Nkoh. Importance of soil amendments with biochar and/or Arbuscular Mycorrhizal fungi to mitigate aluminum toxicity in tamarind (*Tamarindus indica* L.) on an acidic soil: A greenhouse study. **Heliyon**, v. 8, n. 2, 2022.

NGUYEN, Thi Thu Nhan *et al.* Effects of biochar on soil available inorganic nitrogen: a review and meta-analysis. **Geoderma**, v. 288, p. 79-96, 2017.

PICCOLLA, Cristiano Dela *et al.* Colonização de plantas e germinação de esporos e fungos micorrízicos arbusculares na presença de biochar. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 11., São Carlos, SP. 2015

QIU, Liang *et al.* Application of wetland waste plant biochar in combination with arbuscular mycorrhizal fungi on immobilization of Cd in contaminated soil. **Research Square**, 2022.

QUIROZ-MOJICA, Laura Janeth *et al.* Efecto de biochar, micorrizas arbusculares y *Guazuma ulmifolia*, en la rehabilitación de suelos mineros. **Terra Latinoamericana**, v. 39, 2021.

- RAFIQUE, Mazhar *et al.* Effects of *Rhizophagus clarus* and biochar on growth, photosynthesis, nutrients, and cadmium (Cd) concentration of maize (*Zea mays*) grown in Cd-spiked soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 20689-20700, 2019.
- RASHID, Muhammad Saqib *et al.* Role of biochar-based free radicals in immobilization and speciation of metals in the contaminated soil-plant environment. **Journal of Environmental Management**, v. 325, p. 116620, 2023.
- ROSA, Daniel José *et al.* Photosynthesis and growth of young “Niágara Branca” vines (*Vitis labrusca* L.) cultivated in soil with high levels of copper and liming. In: BIO Web of Conferences. **EDP Sciences**, 2014.
- RÓZ, Alessandra L. da *et al.* Maximização do teor de carbono fixo em biocarvão aplicado ao sequestro de carbono. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 810-814, 2015.
- RUSCITTI, Marcela; ARANGO, María; BELTRANO, José. Improvement of copper stress tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 29, p. 37-49, 2017.
- SANTANA, Natielo Almeida. **Estratégias Biológicas na Fitorremediação do Cobre**. Simplíssimo, 2020.
- SANTOS, Humberto Gonçalves dos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília: Embrapa, 2018, 356p.
- SCHIAVO, Jolimar Antonio *et al.* Composto orgânico e inoculação micorrízica na produção de mudas de pinhão manso. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 3, p. 322–329, 2010.
- SHI, Xiang *et al.* Seedling growth and metal accumulation of selected woody species in copper and lead/zinc mine tailings. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 2, p. 266-274, 2011.
- SHUTCHA, Mylor Ngoy *et al.* Three years of phytostabilisation experiment of bare acidic soil extremely contaminated by copper smelting using plant biodiversity of metal-rich soils in tropical Africa (Katanga, DR Congo). **Ecological engineering**, v. 82, p. 81-90, 2015.
- SILVA, Isley Cristiellem Bicalho da *et al.* Growth and production of common bean fertilized with biochar. **Ciência Rural**, v. 47, n. 11, 2017.
- SOBRAL, Lafayette Franco *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.
- SOLAIMAN, Zakaria M.; MURPHY, Daniel V.; ABBOTT, Lynette K. Biochars influence seed germination and early growth of seedlings. **Plant and soil**, v. 353, n. 1, p. 273-287, 2012.

STÜRMER, Sidney Luiz; SIQUEIRA, José Oswaldo. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Brazilian Ecosystems. In: MOREIRA, Fattima Maria de Sousa; SIQUEIRA, José Oswaldo; BRUSSAARD, Lijbert. (Eds). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**, Wallingford: CABI-Publishing, p. 206 - 236, 2006.

TAMAYO-AGUILAR, Yonger *et al.* Bioprodutos no crescimento e produção de *Phaseolus vulgaris* L. var. Delícia 364. **Terra latino-americana**, v. 38, n. 3, p. 667-678, 2021.

TEDESCO, Marino. José *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995.

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

VANDIONANT, Stéphanie *et al.* **Effect of biochar addition to metal-contaminated soil on *Phaseolus vulgaris***. 2019.

WATHIRA, Njunge L.; WACHIRA, Peter; OKOTH, Sheila. Enhancement of colonisation of soybean roots by arbuscular mycorrhizal fungi using vermicompost and biochar. 2016.

XIA, Shaopan *et al.* A critical review on bioremediation technologies for Cr (VI)-contaminated soils and wastewater. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 49, n. 12, p. 1027-1078, 2019.

YRUELA, Inmaculada. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 145-156, 2005.

ZHANG, Fengge *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, biochar and cadmium on the yield and element uptake of *Medicago sativa*. **Science of The Total Environment**, v. 655, p. 1150-1158, 2019.

ZHAO, Zhuojun; CHEN, Lu; XIAO, Yan. Biochar Shifts the Negative Effect of N Addition on Lotus corniculatus L. Growth in TEs Contaminated Soil, Regardless of Exogenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, p. 1-14, 2022.

ZHUO, Feng *et al.* The effect of arbuscular mycorrhizal fungi and biochar on the growth and Cd/Pb accumulation in *Zea mays*. **International Journal of Phytoremediation**, v. 22, n. 10, p. 1009-1018, 2020.

6 DISCUSSÃO GERAL

O biocarvão possui a capacidade de retenção de uma determinada quantidade de cobre, diminuindo sua disponibilidade para a planta (MOORE *et al.*, 2018), devido a adsorção superficial e aumento do pH do solo (CÁRDENAS-AGUIAR *et al.*, 2017), também por reações de complexação, redução e precipitação (QI *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2019), promovendo a remediação de áreas contaminadas. Nesse contexto, as doses de biocarvão adicionadas no solo derivado de resíduos de eucalipto promoveram a diminuição da disponibilidade de cobre em solo contaminado, possibilitando teores nos grãos de *Phaseolus vulgaris* L. abaixo do limite máximo tolerável pela legislação brasileira. Além disso, os teores de cobre no tecido vegetal diminuíram, já a porcentagem de germinação de sementes, o desenvolvimento vegetal e a produtividade do feijão comum aumentaram mesmo em solo contaminado com cobre. Desse modo, o biocarvão afeta a absorção de cobre pelas plantas, através da alteração da mobilidade, biodisponibilidade e redistribuição nos solos, bem como, pode ocasionar o aumento da disponibilidade de outros nutrientes e a diminuição da toxicidade ocasionada pelo cobre, resultando em maior desenvolvimento e rendimento das culturas (MEIER *et al.*, 2017).

Os fungos micorrízicos arbusculares têm a capacidade de aumentar a resistência de plantas ao stress ocasionado pelo excesso de cobre no solo (FERREIRA *et al.*, 2015), possibilitando seu crescimento e produção. Raízes de *Phaseolus vulgaris* L. colonizadas pelas micorrizas são induzidas ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes que são responsáveis pela maior resistência a estresses abióticos, como o excesso de metais pesados (LAMBAIS, RÍOS-RUIZ e ANDRADE, 2003). Alguns mecanismos foram descritos sobre a atuação dos FMAs na remediação de solos contaminados por metais pesados, tais como, diluição dos contaminantes nos tecidos vegetais em decorrência do favorecimento da maior produção de biomassa, exclusão da absorção por meio da precipitação ou quelação dos metais na rizosfera, redução da absorção pela planta devido à retenção e imobilização dos metais nas estruturas fúngicas (MISHRA; BHATTACHARYA e MISHRA, 2019) e agregação de metais na glomalina (KHAN *et al.*, 2020). Sendo assim, a inoculação do feijão comum com *Rizoglyphus clarum* e *Scutellospora pellucida* promoveu melhoria de parâmetros de desenvolvimento e produção das plantas cultivadas em solo contaminado com cobre, além disso, houve redução da disponibilidade de cobre em solo contaminado. Em geral, a espécie *S. pellucida* proporcionou maiores teores de cobre nas raízes e menores teores na parte aérea do

feijão cultivado em solo contaminado, ou seja, houve menor translocação do metal na planta, sendo, portanto, mais efetiva.

Através dos resultados dos dois trabalhos primários e fontes bibliográficas indicando potencial remediador dos FMAs e do biocarvão em solos contaminados com cobre, foi desenvolvida a terceira pesquisa que evidenciou que a utilização conjunta dos fungos com biocarvão proporciona efeito sinérgico para o desenvolvimento de *P. vulgaris* L. e diminuição da disponibilidade do metal no solo. O uso combinado de biocarvão e fungos micorrízicos arbusculares resultou em aumento na altura, porcentagem de germinação de sementes, massa seca aérea e de raízes e produtividade de grãos do feijão em solo contaminado, enquanto que o teor de cobre na raiz, na parte aérea e no grão foi menor, além da translocação que foi menor com esta combinação. Esses resultados corroboram com alguns estudos anteriores que apontam redução da translocação do cobre para a parte aérea de plantas (ANDRADE *et al.*, 2010; GUO e LI, 2019), redução dos teores de cobre na parte aérea e na raiz (ZHAO, CHEN e XIAO 2022) e diminuição da disponibilidade de metais no solo (CHEN *et al.*, 2022). A presença de micorrizas arbusculares em solos com o biocarvão pode potencializar os benefícios no solo e a produtividade de plantas (BUDI e SETYANINGSIH, 2013).

Para perspectivas futuras, sugere-se que outras pesquisas sejam feitas, testando outras espécies de fungos micorrízicos, bem como diferentes espécies de plantas no processo de remediação, além de distintas doses e materiais orgânicos como fonte de produção de biocarvão, o qual inclusive, ainda é pouco explorado em relação aos estudos do processo de produção, que envolve temperatura e tempo de pirólise e também o material de origem, os quais influenciam diretamente nos efeitos de remediação do produto no solo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O biocarvão exerce efeito positivo para a redução da disponibilidade de cobre em solo contaminado, além da diminuição do teor do metal no tecido vegetal de *P. vulgaris* L. Assim como a porcentagem de germinação de sementes, o desenvolvimento vegetal geral e a produtividade são maiores mesmo em solo contaminado com cobre.

A inoculação com os isolados *Rizogloium clarum* e *Scutellospora pellucida* aumenta o desenvolvimento e produção do feijão cultivado em solo contaminado com cobre, também resulta na redução da disponibilidade do metal. A espécie *S. pellucida* proporciona maiores teores de cobre nas raízes e menores teores na parte aérea das plantas, induzindo menor translocação do metal.

O uso combinado de biocarvão e fungos micorrízicos arbusculares proporciona aumento na altura, porcentagem de germinação de sementes, massa seca aérea e de raízes e produtividade de grãos de plantas de feijão comum cultivado em solo contaminado, bem como o teor de cobre disponível no solo, na raiz, na parte aérea e no grão de feijão é menor. Além disso, a translocação de Cu para a parte aérea de *P. vulgaris* L. é menor com a utilização conjunta de biocarvão e FMAs.

REFERÊNCIAS

- ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório anual**, 2020. Disponível em: < <http://abpa-br.org/relatorios/>>. Acesso em: 30 abr. 2022.
- AHMAD, Mahtab *et al.* Trichloroethylene adsorption by pine needle biochars produced at various pyrolysis temperatures. **Bioresource technology**, v. 143, p. 615-622, 2013.
- ANDRADE, Carlos Alberto de Bastos *et al.* Produtividade e qualidade nutricional de cultivares de feijão em diferentes adubações. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 1077-1086, 2004.
- ANDRADE, Sara A. L. *et al.* Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, n. 2, p. 198-207, 2010.
- ANDREAZZA, Robson *et al.* Characterization 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, Robson *et al.* Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. **Revista de ciências agrárias**, v. 36, p. 127-136, 2013.
- ANG, Andrew Si Wo *et al.* Purification and characterization of a glucosamine-binding antifungal lectin from *Phaseolus vulgaris* cv. Chinese pinto beans with antiproliferative activity towards nasopharyngeal carcinoma cells. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 172, p. 672-686, 2014.
- ATCHIBRI, A. L. Ocho-Anin *et al.* Screening for antidiabetic activity and phytochemical constituents of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 17, p. 1757-1761, 2010.
- AYDIN, Haluk; BULUT, Yasemin; YERLIKAYA, Çiğdem. Removal of copper (II) from aqueous solution by adsorption onto low-cost adsorbents. **Journal of environmental management**, v. 87, p. 37-45, 2008
- BASSO, Claudir José *et al.* Teores totais de metais pesados no solo após aplicação de dejetos líquidos de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 653-659, 2012.
- BATISTA, Marcelo Augusto *et al.* Princípios de fertilidade do solo, adubação e nutrição mineral. **BRANDÃO-FILHO, JUT; FREITAS, PSL; BERIAN, LOS; GOTO, R. Hortaliças-fruto. Maringá: EDUEM**, p. 113-161, 2018.
- BAZALAR, Valéria Ferrario; NETO, Antônio Azeredo Coutinho. Fatores que influenciam no desenvolvimento das plantas: água e macronutrientes. *In: DELLA, Aline Possamai et al. VIII BOTÂNICA NO INVERNO*. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2018. 275 p.
- BERBARA, Ricardo LL; SOUZA, Francisco A; FONSECA, Henrique. M. A. C. III-Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. *In: FERNANDES, Manlio Silvestre*.

Nutrição mineral de plantas. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 74-85, 2006.

BISSANI, Carlos Alberto; SEGANFREDO, Milton Antonio; SÁ, Enilson Luiz Saccol de. Cobre e suas formas predominantes no solo em áreas com uso de dejetos animais. *In: X REUNIÃO SUL-BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO*, Pelotas, 2014.

BITOCCHI, Elena. *Et al.* A origem mesoamericana do feijão comum (*Phaseolus vulgaris L.*) é revelada por dados de sequência. **Anais da Academia Nacional de Ciências**, v. 109, p. 788-796, 2012.

BOGUSZ, Aleksandra; OLESZCZUK, Patryk; DOBROWOLSKI, Ryszard. Application of laboratory prepared and commercially available biochars to adsorption of cadmium, copper and zinc ions from water. **Bioresource technology**, v. 196, p. 540-549, 2015.

BOISSON, Sylvain *et al.* Using phytostabilisation to conserve threatened endemic species in southeastern Democratic Republic of the Congo. **Ecological research**, v. 33, p. 789-798, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 722, de 1º de julho de 2022. Limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, 06 de julho de 2022.

BRUNDRETT, Mark 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, n. 1, p. 37-77, 2009.

BUDI, Sri Wilarso; SETYANINGSIH, Luluk. Arbuscular mycorrhizal fungi and biochar improved early growth of neem (*Melia azedarach* Linn.) seedling under greenhouse conditions. **Jurnal Manajemen Hutan Tropika**, v. 19, n. 2, p. 103-110, 2013.

CAMBROLLÉ, Jesús *et al.* Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v. 120, p. 171-178, 2015.

CARBONELL, Sérgio Augusto Moraes; CHIORATO, Alisson Fernando; BEZERRA, Luiza Maria Capanema. A planta e o grão de feijão e as formas de apresentação aos consumidores. *In: FERREIRA, Carlos Magri, BARRIGOSI, José Alexandre Freitas. Arroz e feijão*, Brasília, DF: Embrapa, 2021, 164 p.

CÁRDENAS-AGUIAR, Eliana *et al.* The effect of biochar and compost from urban organic waste on plant biomass and properties of an artificially copper polluted soil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 124, p. 223-232, 2017.

CHENG, Ning *et al.* Adsorption of emerging contaminants from water and wastewater by modified biochar: A review. **Environmental Pollution**, v. 273, p. 116448, 2021.

COLLET, Marina Lopes *et al.* Fitorremediação de áreas de lixão desativadas com *Phaseolus vulgaris* e *Lactuca sativa* obtidas de solo contaminado por metais (cobre e zinco). **Unoesc & Ciência-ACBS**, v. 9, n. 2, p. 159-164, 2018.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Safra Brasileira de Grãos. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 11 abr. 2022.

CONAMA. Resolução n° 420. De 28 de dezembro de 2009. Acesso em: 10 fevereiro de 2022

CHEN, Zhongbing *et al.* Immobilization of chromium enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi in semi-aquatic habitats with biochar addition. **Journal of Hazardous Materials**, v. 439, p. 129562, 2022.

DA ROS, Clovis Orlando *et al.* Disponibilidade de nutrientes e acidez do solo após aplicações sucessivas de água residuária de suinocultura. **Revista Brasileira de Tecnologia Agropecuária**, v. 1, n. 1, p. 35-44, 2017.

DAYNES, Cathal N. *et al.* Development and stabilisation of soil structure via interactions between organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi and plant roots. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 57, p. 683-694, 2013.

DE MELO, George Wellington *et al.* Uso de fungos micorrízicos arbusculares em videiras jovens como estratégia para amenizar a toxidez de cobre. **Embrapa Uva e Vinho- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2015.

DECHEN, Antonio Roque; NACHTIGALL, Gilmar Ribeiro. Elementos requeridos à nutrição de plantas. *In*: NOVAIS, Roberto Ferrreira; ALVAREZ V, Victor Hugo; BARROS, Nairam Felix de; FONTES, Renildo Lucio; CANTARUTTI, Reinaldo Bertola; NEVES, Julio Cesar Lima . (Org.). **Fertilidade do Solo**. 1 ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. P. 91- 132.

EDEH, Ifeoma G.; MAŠEK, Ondřej; BUSS, Wolfram. A meta-analysis on biochar's effects on soil water properties—New insights and future research challenges. **Science of the Total Environment**, v. 714 p. 136857, 2020.

FAGAN, Evandro Binotto *et al.* **Fisiologia vegetal: metabolismo e nutrição mineral**. São Paulo: Andrei Editora, 2016.

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, Paulo Ademar Avelar *et al.* *Rhizophagus clarus* and phosphate alter the physiological responses of *Crotalaria juncea* cultivated in soil with a high Cu level. **Applied Soil Ecology**, v. 91, p. 37-47, 2015.

GARCÍA-LAFUENTE, Ana *et al.* In vitro anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. **Food Chemistry**, v. 161, p. 216-223, 2014.

GIROTTTO, Eduardo *et al.* Acúmulo e formas de cobre e zinco no solo após aplicações sucessivas de dejetos líquidos de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 955-965, 2010.

GOMEZ-EYLES, José L.; GHOSH, Upal. Enhanced biochars can match activated carbon performance in sediments with high native bioavailability and low final porewater PCB concentrations. **Chemosphere**, v. 203, p. 179-187, 2018.

GONÇALVES, Gustavo Krüger *et al.* Respostas de mudas de videiras a adubação com cobre em solos de santana do livramento-RS. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 26378-26387, 2019.

GROHSKOPF, Marco A. *et al.* Copper and zinc forms in soil fertilized with pig slurry in the bean crop. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.20, n.9, p.823-829, 2016.

GROSS, Eduardo; PEREIRA, Lidiane Silva. Fungos micorrízicos arbusculares em cacauzeiro. *in:* SOUZA JÚNIOR, José Olímpio de. **Cacau-Cultivo, Pesquisa e Inovação**. 1ed. Ilhéus, BA, Editus, v. 18, p. 235-253, 2018.

GUO, Xiongfei; LI, Huashou. Effects of iron-modified biochar and AMF inoculation on the growth and heavy metal uptake of *Senna occidentalis* in heavy metal-contaminated soil. **Pol J Environ Stud**, v. 28, n. 4, p. 2611-2621, 2019.

HALL, J. áL. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of experimental botany**, v. 53, p. 1-11, 2002.

HAMMER, Edith C. *et al.* Biochar increases arbuscular mycorrhizal plant growth enhancement and ameliorates salinity stress. **Applied soil ecology**, v. 96, p. 114-121, 2015.

HE, Lizhi *et al.* Remediation of heavy metal contaminated soils by biochar: Mechanisms, potential risks and applications in China. **Environmental pollution**, v. 252, p. 846-855, 2019.

HUANG, Peng *et al.* Effects of metal ions and pH on ofloxacin sorption to cassava residue-derived biochar. **Science of the Total Environment**, v. 616, p. 1384-1391, 2018.

HUANG, Xeniaoch *et al.* Unraveling the effects of arbuscular mycorrhizal fungus on uptake, translocation, and distribution of cadmium in *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 149, p. 43-50, 2018.

HUGEN, Camila *et al.* Teores de Cu e Zn em perfis de solos de diferentes litologias em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 622-628, 2013.

JEFFRIES, Peter; BAREA, Jose Miguel. Arbuscular mycorrhiza - a key component of sustainable plant soil ecosystems. *In:* HOCK, B. (Ed.). **The mycota IX. Fungal Associations**. 2. th. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, v. 1, p. 51-75. 2012.

KABATA-PENDIAS, Alina. **Trace Elements in Soils and Plants**. 4 th. CRC Press, Taylor and Francis Group. 2010.

KAMMANN, Claudia, *et al.* Biochar as a tool to reduce the agricultural greenhouse-gas burden—knowns, unknowns and future research needs. **Journal of Environmental Engineering and Landscape Management**, v. 25, n. 2, p. 114-139, 2017.

- KELLER, Catherine *et al.* Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum L.*) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 μM Cu. **Planta**, v. 241, n. 4, p. 847-860, 2015.
- KHAN, Anwarzeb *et al.* The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. **Environmental science and pollution research**, v. 22, n. 18, p. 13772-13799, 2015.
- KHAN, Muhammad Asaf *et al.* Associative effects of lignin-derived biochar and arbuscular mycorrhizal fungi applied to soil polluted from Pb-acid batteries effluents on barley grain safety. **Science of the Total Environment**, v. 710, p. 136294, 2020.
- KODRE, Alojz *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi alter Hg root uptake and ligand environment as studied by X-ray absorption fine structure. **Environmental and Experimental Botany**, v. 133, p. 12-23, 2017.
- LAMBAIS, Marcio Rodrigues; RÍOS-RUIZ, Winston Franz; ANDRADE, Robinson Moresca de. Antioxidant responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist**, v. 160, n.2, p. 421-428, 2003.
- LANDAU, Elena Charlotte; MOURA, Larissa. Evolução da produção de feijão (*Phaseolus vulgaris*, *Fabaceae*). **Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2020.
- LEHMANN, Johannes *et al.* Persistence of soil organic carbon caused by functional complexity. **Nature Geoscience**, v. 13, n. 8, p. 529-534, 2020.
- LEITE, Paulo Régis Viana; ZAMPIERON, João Vicente. Avaliação da cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris* cv carioquinha) em solo contaminado por metais pesados, utilizando técnicas de microscopia eletrônica de varredura e espectrometria por dispersão de energia. **Revista Agrogeoambiental**, v. 4, n. 3, 2012.
- LI, Jing *et al.* Copper pollution decreases the resistance of soil microbial community to subsequent dry–rewetting disturbance. **Journal of Environmental Sciences**, v. 39, p. 155-164, 2016.
- LIU, Ling *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and biochar amendment on maize growth, cadmium uptake and soil cadmium speciation in Cd-contaminated soil. **Chemosphere**, v. 194, p. 495-503, 2018.
- LOPES, Érika Manuela Gonçalves *et al.* Biochar aumenta a atividade enzimática e a qualidade microbiana total do solo cultivado com cana-de-açúcar. **Tecnologia e Inovação Ambiental**, v. 21, p. 101270, 2021.
- LÓPEZ, Ana *et al.* Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris L.*). **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 547-555, 2013.
- LORENZ, Klaus; LAL, Rattan. Biochar application to soil for climate change mitigation by soil organic carbon sequestration. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 177, n. 5, p. 651-670, 2014.

- LOURENZI, Cledimar *et al.* Fertilidade do solo e nutrição na produção e sanidade de plantas. *in: STADNIK, Marciel; VELHO, Aline; ZORRILLA, Susana. Desenvolvimento sustentável na produção agroalimentar.* 1 ed. Florianópolis-SC. UFSC, 2019, 218 p.
- LU, Kouping *et al.* Effect of bamboo and rice straw biochars on the mobility and redistribution of heavy metals (Cd, Cu, Pb and Zn) in contaminated soil. **Journal of environmental management**, v. 186, p. 285-292, 2017.
- LYUBENOVA, Lyudmila *et al.* Comparative study on the impact of copper sulphate and copper nitrate on the detoxification mechanisms in *Typha latifolia*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 657-666, 2015.
- MA, Ying *et al.* Potential of plant beneficial bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of metal-contaminated saline soils. **Journal of hazardous materials**, v. 379, p. 120813, 2019.
- MALAVOLTA, Eurípedes *et al.* Micronutrientes e metais pesados - essencialidade e toxidez. *in: PATERNIANI, Ernesto. Ciência, agricultura e sociedade.* 1 ed. Brasília - DF. Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 503 p.
- MAMIDI, Sujan *et al.* Demographic factors shaped diversity in the two gene pools of wild common bean *Phaseolus vulgaris* L. **Heredity**, v. 110, n. 3, p. 267-276, 2013.
- MARQUES, Daniele Maria *et al.* Copper toxicity on photosynthetic responses and root morphology of *Hymenaea courbaril* L. (*Caesalpinioideae*). **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 229, n. 5, p. 1-14, 2018.
- MARTINS, Camila Aparecida da Silva; *et al.* A dinâmica de metais-traço no solo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.17, p. 383-391, 2011.
- 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.
- MEIER, Sebastián *et al.* Chicken-manure-derived biochar reduced bioavailability of copper in a contaminated soil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 17, n. 3, p. 741-750, 2017.
- MIRANSARI, Mohammad. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 645-653, 2011.
- MISHRA, Aradhana; BHATTACHARYA, Arpita; MISHRA, Nishtha. Mycorrhizal symbiosis: an effective tool for metal bioremediation. *In: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering.* Elsevier, 2019. p. 113-128.
- MOORE, Francisca, *et al.* Copper immobilization by biochar and microbial community abundance in metal-contaminated soils. **Science of the Total Environment**, v. 616, p. 960-969, 2018.

MOREIRA, Fátima Maria de Souza; SIQUEIRA, José Oswaldo. Microbiologia e Bioquímica do Solo, 5ª ed., UFLA: Lavras, 2006.

MOURA, Monique Maculan; CARNEIRO, Pedro Crescêncio Souza; CARNEIRO, José Eustáquio de Souza e CRUZ, Cosme Damião. Potencial de caracteres na avaliação da arquitetura de plantas de feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 417-425, 2013.

NADEEM, Sajid Mahmood *et al.* The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology advances*, New York, v. 32, n. 2, p. 429-448, 2014.

NETO, Aroldo Antonio de Oliveira; SANTOS, Candice Mello Romero. A cultura do feijão. 1 ed. Brasília: Conab, 2018. 244 p.

NIE, Chengrong *et al.* Impact of sugarcane bagasse-derived biochar on heavy metal availability and microbial activity: a field study. **Chemosphere**, v. 200, p. 274-282, 2018.

NOVAK, Jeffrey. M. *et al.* Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil. *Soil Science*, Berlin, v. 174, p. 105-112, 2009.

OEHL, Fritz; DE SOUZA, Francisco Adriano; SIEVERDING, Ewald. Revision of Scutellospora and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. **Mycotaxon**, v. 106, n. 1, p. 311-360, 2008.

ONI, Babalola Aisosa; OZIEGBE, Olubukola; OLAWOLE, Obembe O. Significado da aplicação de biochar para o meio ambiente e economia. **Anais de Ciências Agrícolas**, v. 64, n. 2, pág. 222-236, 2019.

PINHEIRO, Patrícia Valle; FARIA, Josias Correa de. **Fluxo gênico em feijoeiro comum: ocorrência e possíveis conseqüências**. Embrapa Arroz e Feijão, 2005.

QI, Fangjie *et al.* Pyrogenic carbon and its role in contaminant immobilization in soils. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 47, n. 10, p. 795-876, 2017.

RAMOS JUNIOR, Edison Ulisses; LEMOS, Leandro Borges; SILVA, Tiago Roque Benetoli da. Componentes da produção, produtividade de grãos e características tecnológicas de cultivares de feijão. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 75-82, 2005.

RIAZ, Muhammad *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi-induced mitigation of heavy metal phytotoxicity in metal contaminated soils: a critical review. **Journal of hazardous materials**, v. 402, p. 123919, 2021.

RODRIGUES, Luciana Aparecida; BARROSO, Deborah Guerra; FIQUEIREDO, Fábio Afonso MM. Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e na nutrição mineral de mudas de *Tectona grandis* LF. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 25-34, 2018.

ROSTAGNO, Horacio Santiago; *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. 4. ed. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia - UFV, 2017. *E-book*. Disponível em:

https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4532766/mod_resource/content/1/Rostagno%20et%20al%202017.pdf. Acesso em: 19 mar. 2022.

SÁNCHEZ SÁNCHEZ, Álvaro Antonio. **Influencia de micorrizas arbusculares en el desarrollo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Pinto americano bajo condiciones de estrés**. Tese de Doutorado. Universidad Autónoma de Nuevo León, 2022.

SALAMONI, Rafael Hollweg; PINHEIRO, Rinaldo JB; NUMMER, Andrea V. Processo operacional da Central de Tratamento de Resíduos da Caturrita–Santa Maria, RS. **Teoria e Prática na Engenharia Civil**, n. 14, p. 43-50, 2009.

SALEEM, Zainish M.; AHMED, Salman; HASAN, Muhammad Mohtasheemul. *Phaseolus Vulgaris* linn.:botânica, usos medicinais, fitoquímica e farmacologia. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 11, pág. 1611-1616, 2016.

SANTANA, Natielo Almeida. **Estratégias Biológicas na Fitorremediação do Cobre**. Simplíssimo, 2020.

SANTOS, Humberto Gonçalves dos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília: Embrapa, 2018, 356p.

SCHMIDT, Hans-Peter *et al.* Biochar in agriculture—A systematic review of 26 global meta-analyses. **GCB Bioenergy**, v. 13, n. 11, p. 1708-1730, 2021.

SCHMUTZ, Jeremy *et al.* A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. **Nature Genetics**, v. 46, n. 7, p.707-713, 2014.

SCHNEIDER, Jerusa *et al.* Anatomy and ultrastructure alterations of *Leucaena leucocephala* (Lam.) inoculated with mycorrhizal fungi in response to arsenic-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p. 1245-1258, 2013.

SCORIZA, Rafael Nogueira; CORREIRA, Maria Elizabeth Fernandes; DA SILVA, Eliane Maria Ribeiro. Colêmbolos e fungos micorrízicos arbusculares como indicadores de degradação em fragmentos florestais de encosta. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 59, n. 4, p. 386, 2016.

SHI, Wenguang *et al.* Physiological and molecular mechanisms of heavy metal accumulation in nonmycorrhizal versus mycorrhizal plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, n. 4, p. 1087-1103, 2019.

SIEVERDING, Ewald *et al.* Rhizoglopus, a new genus of the Glomeraceae. **Mycotaxon**, v. 129, n. 2, p. 373-386, 2014.

SIGUA, Gilbert. C.; NOVAK, Jeffrey. M.; WATTS, Donald. W. Ameliorating soil chemical properties of a hard setting subsoil layer in Coastal Plain USA with different designer biochars. **Chemosphere**, v. 142, p. 168-175, 2016.

SILVA, Alinne da *et al.* Fertilidade do solo e desenvolvimento de feijão comum em resposta adubação com pó de basalto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 4, p. 548-554, 2012.

SILVA, Isley Cristiellem Bicalho da *et al.* Growth and production of common bean fertilized with biochar. **Ciência Rural**, v. 47, n. 11, 2017.

SILVA, Osmira Fátima da; WANDER, Alcido Elenor. O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2013.

SOUSA, Ivan Sergio Freire de; FERREIRA, Carlos Magri. Aspectos histórico-culturais do arroz e do feijão na sociedade brasileira. *in*: FERREIRA, Carlos Magri, BARRIGOSI, José Alexandre Freitas. **Arroz e feijão**, Brasília, DF: Embrapa, 2021, 164 p.

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

TAIZ Lincoln, ZEIGER Eduardo. **Plant Physiology**. 3 rd. Sunderland: Sinauer Associates, 2002. 690 p.

TEDESCO, Marino. José *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995.

THOUNAOJAM, Thorny Chanu *et al.* Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. **Plant physiology and biochemistry**, v. 53, p. 33-39, 2012.

TORRES, Nazareth; ANTOLÍN, M. Carmen; GOICOECHEA, Nieves. Arbuscular mycorrhizal symbiosis as a promising resource for improving berry quality in grapevines under changing environments. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 897, 2018.

TSUTSUMI, Claudio Yuji; BULEGON, Lucas Guilherme; PIANO, Jeferson Tiago. Melhoramento genético do feijoeiro, avanços, perspectivas e novos estudos. **Nativa**, v. 3, n. 3, p. 217-223, 2015.

XIA, Shaopan *et al.* A critical review on bioremediation technologies for Cr (VI)-contaminated soils and wastewater. **Critical reviews in environmental science and technology**, v. 49, n. 12, p. 1027-1078, 2019.

WU, Jianyong *et al.* Seedling performance of *Phragmites australis* (C av.) Trin ex. S teudel in the presence of arbuscular mycorrhizal fungi. **Journal of applied microbiology**, v. 116, n. 6, p. 1593-1606, 2014.

WUANA, Raymond A.; OKIEIMEN, Felix E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **International Scholarly Research Notices**, v. 2011, 2011.

YANG, Xiaodong *et al.* Surface functional groups of carbon-based adsorbents and their roles in the removal of heavy metals from aqueous solutions: a critical review. **Chemical Engineering Journal**, v. 366, p. 608-621, 2019.

YRUELA, Inmaculada. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, p. 145-156, 2005.

ZHANG, Chenting *et al.* Pyrolysis of cellulose: Evolution of functionalities and structure of bio-char versus temperature. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 135, p. 110416, 2021.

ZHANG, Fengge *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, biochar and cadmium on the yield and element uptake of *Medicago sativa*. **Science of The Total Environment**, v. 655, p. 1150-1158, 2019.

ZHANG, Jin. *et al.* Effect of tobacco stem-derived biochar on soil metal immobilization and the cultivation of tobacco plant. **Journal of Soils and Sediments**, v. 19, n. 5, p. 2313-2321, 2019.

ZHAO, Zhuojun; CHEN, Lu; XIAO, Yan. Biochar Shifts the Negative Effect of N Addition on *Lotus corniculatus* L. Growth in TEs Contaminated Soil, Regardless of Exogenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, p. 1-14, 2022.

NUP: 23081.052512/2023-07

Prioridade: Normal

Ato de entrega de dissertação/tese

134.334 - Dissertação e tese

COMPONENTE

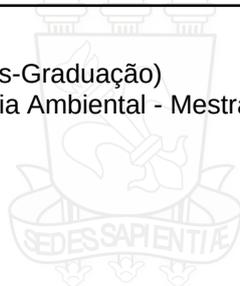
Ordem	Descrição	Nome do arquivo
1	Dissertação de mestrado (134.334)	DISSERTAÇÃO - Daniel Fontanive final.pdf

Assinaturas

10/04/2023 22:45:00

DANIEL ERISON FONTANIVE (Aluno de Pós-Graduação)

33.10.02.01.0.0 - PG em Ciência e Tecnologia Ambiental - Mestrado - CAMPUS UFSM-FW - 42002010164M1



1960



1960

Código Verificador: 2611841

Código CRC: 59a90cdc

Consulte em: <https://portal.ufsm.br/documentos/publico/autenticacao/assinaturas.html>

