Universidade Federal do Rio de Janeiro

Potencial fitorremediador do milho (*Zea mays*) inoculado com fungo micorrízico arbuscular em um solo contaminado por Cobre ou Zinco

Raphael Pierotte Mello de Freitas

Rio de Janeiro

2016

Raphael Pierotte Mello de Freitas

Potencial fitorremediador do milho (*Zea mays*) inoculado com fungo micorrízico arbuscular em um solo contaminado por Cobre ou Zinco

Dissertação de Mestrado apresentada ao corpo docente do curso de pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadores: Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.

Marco Antônio Martins, D.Sc.

Rio de Janeiro

2016

F862p

Freitas, Raphael Pierotte Mello de
Potencial fitorremediador do milho (Zea mays) inoculado com fungo micorrízico arbuscular em um solo contaminado por Cobre ou Zinco / Raphael Pierotte Mello de Freitas. -- Rio de Janeiro, 2016.
84 f.

Orientadora: Selma Gomes Ferreira Leite.
Coorientador: Marco Antônio Martins.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2016.

1. Fitorremediação. 2. Fungos micorrízicos arbusculares. 3. Engenharia ambiental. I. Leite, Selma Gomes Ferreira, orient. II. Martins, Marco Antônio, coorient. III. Título.

Potencial fitorremediador do milho (*Zea mays*) inoculado com fungo micorrízico arbuscular em um solo contaminado por Cobre ou Zinco

Dissertação de Mestrado apresentada ao corpo docente do curso de pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Aprovada em Agosto de 2016

_____

Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc., Escola de Química/UFRJ.

_____

Marco Antônio Martins, D.Sc., UENF.

_____

Eliana Flavia Camporese Servulo, D. Sc., Escola de Química/UFRJ.

_____

Andréa Camardella de Lima Rizzo, D. Sc., CETEM/MCTIC.

_____

Fernando Reynel Fundora Tellechea, D. Sc., UENF.

Agradecimentos

Agradeço à Deus, pela vida e pelas oportunidades que tive até aqui.

À minha família, em especial ao meu pai, Inácio, por me dar todo o apoio necessário à conclusão de mais essa etapa, e à minha irmã, Lívia, por sempre ter me incentivado nos estudos.

À minha noiva, Érika, por estar sempre junto, mesmo apesar da distância.

Aos amigos, os quais tenho um pouco de cada um dentro de mim. Em especial, agradeço aos companheiros do Laboratório de Microbiologia de Solos da UENF, Andreia, Fernando, Heloísa e Rosana. Sem vocês teria sido muito mais difícil e muito menos divertido!

À professora Selma, pela orientação, presteza, e disponibilidade ao longo de todo o período da realização da pesquisa.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense, em especial ao professor Marco Antônio Martins, pela orientação e por me receber muito bem no Laboratório de Microbiologia de Solos.

À professora Marta Simone, do Laboratório de Fitotecnia da UENF, pelo auxílio na realização da pesquisa. Em especial ao Sr. Acácio, pela ajuda mais que preciosa na realização das análises e pelas boas conversas!

À Universidade Federal do Rio de Janeiro, em especial aos servidores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, que sempre me atenderam com eficiência e presteza.

Resumo

DE FREITAS, Raphael Pierotte Mello. **Potencial fitorremediador do milho (*Zea mays*) inoculado com fungo micorrízico arbuscular em um solo contaminado por Cobre ou Zinco**. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

O número de áreas contaminadas pelas atividades humanas cresce em todo o planeta. Diversas técnicas vêm sendo aprimoradas para a remediação dessas áreas, e nesse contexto a fitorremediação vem sendo considerada uma alternativa promissora, por ser uma técnica melhor aceita socialmente, além de melhorar as características físicas e biológicas do solo. O presente trabalho visa contribuir para esse campo de estudo, através da realização de dois experimentos em casa de vegetação. Em um deles foi avaliada a fitorremediação de solo contaminado com cobre, e no outro a fitorremediação de solo contaminado com zinco. Em ambos a espécie utilizada foi o milho (*Zea mays*), e foi avaliada a influência da inoculação com fungo micorrízico arbuscular (FMA) - *Rhizophagus clarus* - no processo de descontaminação. A colonização micorrízica sofreu influência da dose de contaminante aplicado, decrescendo com o aumento desta. Com relação à fitoextração, o cobre acumulou-se em maior quantidade na raiz das plantas, enquanto o zinco acumulou-se majoritariamente na parte aérea, levando à conclusão que *Rhizophagus clarus* apresenta boa capacidade de retenção/imobilização de cobre em seus tecidos. Os conteúdos de contaminante na parte aérea e na raiz foram sempre maiores nas plantas inoculadas, principalmente devido à maior biomassa destas. Os melhores resultados, para ambos os experimentos, foram obtidos para os tratamentos inoculados com fungo micorrízico arbuscular na menor dose de contaminante aplicado (100 mg/kgCu e 300 mg/kgZn). Portanto, conclui-se que a técnica utilizada tem potencial de aplicação apenas para solos contaminados em baixa magnitude e de maneira difusa.

Palavras-chave: Fitorremediação, micorrizas, contaminação, cobre, zinco.

Abstract

DE FREITAS, Raphael Pierotte Mello. **Potencial fitorremediador do milho (*Zea mays*) inoculado com fungo micorrízico arbuscular em um solo contaminado por Cobre ou Zinco**. Rio de Janeiro, 2016. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

The number of contaminated areas by human activities grows across the globe. Several techniques have been improved for the remediation of these areas, and in this context the phytoremediation has been considered a promising alternative, because it is a socially better accepted technique, and improve the physical and biological soil characteristics. This work aims to contribute to this study area, by conducting two experiments in the greenhouse. In one of them was evaluated phytoremediation of copper contaminated soil, and other phytoremediation of zinc contaminated soil. In both, maize (*Zea mays*) was the chosen species, and evaluated the influence of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (*Rhizophagus clarus*) in the decontamination process. The mycorrhizal colonization was influenced by the applied level of pollutant, decreasing with the increase of this. Regarding Phytoextraction, copper up accumulated in greater quantity in the plant roots, while zinc has accumulated mainly in the shoot, leading to the conclusion that *Rhizophagus clarus* has good copper retention/immobilisation capacity in their tissues. The contaminant content in shoots and roots were always higher in inoculated plants, mainly due to higher biomass of these. The best results, for both experiments, were obtained for the inoculated plants at lower contamination level (100 mg/kgCu e 300 mg/kgZn). Therefore, it is concluded that the technique has application potential only to contaminated soils in low magnitude and diffusely.

Keywords: Phytoremediation, mycorrhiza, contamination, copper, zinc.

Sumário

1. Introdução 13
2. Objetivos 15
3. Revisão bibliográfica 16
   3.1. Áreas contaminadas 16
      3.1.1. Áreas Contaminadas no Brasil 17
   3.2. Contaminação por metais pesados 20
      3.2.1. Os metais pesados 20
         3.2.1.1. Metais pesados no ambiente 21
      3.2.2. Áreas contaminadas por metais pesados 22
   3.3. Remediação de áreas contaminadas 24
   3.4. Fitorremediação 26
      3.4.1. Fitoextração 27
      3.4.2. Fitoestimulação 28
      3.4.3. Fitotransformação 29
      3.4.4. Fitoestabilização 29
      3.4.5. Rizofiltração 30
   3.5. O Milho (*Zea Mays*) 30
   3.6. Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) 32
      3.6.1. Caracterização 33
      3.6.2. Rhizophagus clarus 34
         3.6.2.1. Aplicação 34
4. Materiais e Métodos 35
   4.1. Solo 35
   4.2. Inóculo 37
   4.3. Sementes 37
   4.4. Determinações Analíticas 38
      4.4.1. Altura, diâmetro do caule e contagem do número de folhas 38
      4.4.2. Pesagem e análise do teor de Cu e Zn no material vegetal 38
      4.4.3. Análise de pH do solo 39
      4.4.4. Análise da colonização micorrízica 39
      4.4.5. Análise de Cu e Zn no solo 39
      4.4.6. Análise estatística dos resultados 40
5. Resultados e Discussão 40

5.1. Colonização micorrízica 40
5.2. Parâmetros biométricos das plantas 42
5.2.1. Altura 43
5.2.2. Diâmetro do caule 45
5.2.3. Massa seca da parte área 47
5.2.4. Massa seca da raiz 50
5.3. Conteúdo de contaminante na parte aérea 51
5.4. Conteúdo de contaminante na raiz 54
5.5. Aumento do pH do solo 56
5.6. Avaliação da redução da contaminação do solo 58
5.7. Análise estatística dos modelos 60
6. Conclusões 61
7. Referências 63
8. Apêndices 69
APÊNDICE A – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS RESPOSTAS AVALIADAS NO EXPERIMENTO DO COBRE 69
APÊNDICE B - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS RESPOSTAS AVALIADAS NO EXPERIMENTO DO ZINCO 74
APÊNDICE C – RESULTADOS DOS ÍNDICES BIOMÉTRICOS DAS PLANTAS 79
APÊNDICE D – CONTEÚDO DE CONTAMINANTE NAS PLANTAS 82
APÊNDICE E – VARIAÇÃO DO PH DO SOLO 83
APÊNDICE F – TABELAS-RESUMO DAS ANÁLISES DO TEOR DE CU E ZN NO SOLO 84

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Número de áreas contaminadas e reabilitadas nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, no ano de 2014 18
Gráfico 2: Evolução do número de áreas contaminadas e reabilitadas cadastradas no estado de São Paulo, de 2002 a 2014. Fonte: CETESB 18
Gráfico 3: Distribuição das áreas contaminadas no Estado de São Paulo, pela fonte de contaminação, no ano de 2014. Fonte: CETESB 19
Gráfico 4: Número de áreas contaminadas no Estado de São Paulo, por grupo de contaminantes, no ano de 2014. Fonte: CETESB 20
Gráfico 5: Porcentagem de colonização micorrízica em função da dose de cobre aplicada. 41
Gráfico 6: Porcentagem de colonização micorrízica em função da dose de zinco aplicada . 42
Gráfico 7: Influência das variáveis analisadas na altura das plantas – Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 43
Gráfico 8: Influência das variáveis analisadas na altura das plantas – Experimento do zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 44
Gráfico 9: Influência das variáveis analisadas no diâmetro do caule das plantas – Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 46
Gráfico 10: Influência das variáveis analisadas no diâmetro do caule das plantas – Experimento do zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 47
Gráfico 11: Influência das variáveis analisadas na massa seca da parte aérea das plantas – Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 48
Gráfico 12: Influência das variáveis analisadas na massa seca da parte aérea das plantas – Experimento do zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 49
Gráfico 13: Influência das variáveis analisadas na massa seca da raiz das plantas – Experimento do Cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 50
Gráfico 14: Influência das variáveis analisadas na massa seca da raiz das plantas – Experimento do Zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 51
Gráfico 15: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de cobre na parte aérea das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 52
Gráfico 16: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de zinco na parte aérea das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 53
Gráfico 17: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de cobre na raiz das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 54
Gráfico 18: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de zinco na raiz das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 56
Gráfico 19: Relação entres as variáveis analisadas e o aumento do pH do solo. Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 57
Gráfico 20: Relação entres as variáveis analisadas e o aumento do pH do solo. Experimento do zinco Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA 57

Lista de Figuras

Figura 1: Mecanismo de fitoextração de contaminantes. Fonte: Adaptado de EPA (2000) .. 28
Figura 2: Microrganismos que habitam o interior das plantas, representados pelos círculos coloridos. Fonte: Adaptado de BRADER et al (2014) 32
Figura 3: Raiz colonizada com presença de arbúsculos (esquerda) e raiz não colonizada (direita). 41
Figura 4: Comparação entre as plantas inoculadas e não inoculadas com FMA. A – Plantas inoculadas; B – Plantas não inoculadas. 0 – Sem contaminação; 1 – 100 mg/kgCU; 2 – 200 mg/kgCu; 3 – 400 mg/kgCu 44
Figura 5: Comparação entre as plantas inoculadas e não inoculadas com FMA. A – Plantas inoculadas; B – Plantas não inoculadas. 0 – Sem contaminação; 1 – 300 mg/kgZn; 2 – 600 mg/kgZn; 3 – 900 mg/kgZn 45

Lista de Tabelas

Tabela 1: Principais tecnologias utilizadas na remediação de solos contaminados por metais. Fonte: (DOD, 1994 – Adaptado) 25
Tabela 2: Características químicas do solo antes da contaminação. MO – Matéria Orgânica, CTC – Capacidade de Troca Catiônica, SB – Soma de Bases Trocáveis, V – Índice de Saturação de Bases, m – Índice de Saturação de alumínio, ISNa – Índice de Saturação de Sódio. 36
Tabela 3: Valores orientadores de Investigação, para áreas agrícolas (CONAMA, 2009).... 36
Tabela 4: Percentuais de redução da concentração biodisponível de contaminante do solo 58
Tabela 5: Percentuais de redução da concentração pseudo-total de contaminante do solo. 59
Tabela 6: Significância estatística dos modelos gerados através do programa Design Expert 10. Valores de p-value menores que 0,05 indicam que o modelo é estatisticamente significante..... 60
Tabela 7: Valores de Altura e Diâmetro do caule, após 60 dias, para o experimento do cobre. 79
Tabela 8: Valores de Altura e Diâmetro do caule, após 60 dias, para o experimento do zinco. 80
Tabela 9: Valores de massa seca da parte aérea e da raiz, após 60 dias, para ambos experimentos. 81
Tabela 10: Conteúdo de contaminante na parte aérea e na raiz, após 60 dias, para ambos experimentos. 82
Tabela 11: Variação de pH do solo entre o tempo inicial e final, para ambos experimentos. 83
Tabela 12: Redução da contaminação do solo entre o tempo inicial e final, para o experimento do cobre. 84
Tabela 13: Redução da contaminação do solo entre o tempo inicial e final, para o experimento do zinco. 85

1. Introdução

Falar sobre degradação do meio ambiente tornou-se redundante nos últimos tempos. Estamos acostumados a presenciar, ou ao menos a tomar conhecimento através dos meios de comunicação, de diversas formas de agressão à natureza, que acabam por comprometer a qualidade dos ecossistemas, seja através da água, do ar ou do solo. Este último, por sua vez, muitas vezes não recebe a atenção merecida, apesar de sofrer tanto quanto os outros compartimentos ambientais. Segundo a Organização das Nações Unidas, dois hectares de solo são destruídos a cada minuto pelo crescimento urbano, e dentre as principais causas estão o desmatamento, más práticas agrícolas, poluição e uso excessivo de pastagens. Não por acaso, a ONU declarou 2015 como o Ano Internacional do Solo, pela sua enorme importância para a humanidade.

Através do solo, o homem obtém seu alimento, constrói suas casas e produz uma grande variedade de bens materiais. Não obstante, ele ainda nos presta diversos serviços ambientais, como armazenamento e filtragem da água, reciclagem de nutrientes e abrigo de um quarto da biodiversidade do planeta (ONU, 2015).

Outro relevante aspecto do solo se relaciona com o seu papel com indicador da qualidade ambiental dos ecossistemas. De acordo com Andrade (2013), solos e sedimentos são compartimentos pouco móveis no espaço, o que permite um referencial de análise diferenciado e complementar em relação a compartimentos mais dinâmicos, como a água e o ar. Além disso, trata-se de um compartimento ambiental intermediário, que pode indicar poluição oriunda da atmosfera, lavada pelas águas da chuva, bem como uma contaminação em potencial para lençol subterrâneo e os rios.

Logo, tanto pela sua importância para o homem quanto pela sua relevância ambiental, é urgente a necessidade de uma maior preocupação com o solo, no que diz respeito a ações de monitoramento de sua qualidade e de recuperação de áreas degradadas.

Dentro desse contexto, tem se observado uma evolução das tecnologias para a remediação de áreas contaminadas nos últimos tempos. De acordo com Moraes *et*

al. (2014), as mesmas têm evoluído de técnicas de contenção, escavação e tratamento *off-site* para tecnologias de remediação *in situ*, como *soil vapor extraction*, *air sparging*, oxiadação e redução química, biorremediação e fitorremediação.

Dentre as técnicas em desenvolvimento, a fitorremediação vem ganhando destaque, pois agrega vantagens que vão além do tratamento do contaminante. Além de causar um menor impacto visual e estético, motivo pelo qual é uma técnica melhor aceita socialmente, a fitorremediação melhora também as características físicas e biológicas do solo, não se restringindo apenas a uma mudança na composição química do mesmo. Ademais, promove a revegetação das áreas contaminadas, o que ajuda a proteger o solo contra a erosão eólica e hídrica (TAVARES *et al*, 2013).

Apesar de apresentar novos ganhos, a fitorremediação ainda não apresenta os mesmos níveis de eficiência de remoção de contaminantes quando comparada com as tecnologias físico-químicas. Entretanto, sua utilização pode ter bons resultados em áreas com contaminação difusa e de baixa concentração, ou áreas extensas onde as técnicas convencionais não são viáveis economicamente (ZEITOUNI, 2003). Outrossim, a técnica vem sendo aprimorada pela pesquisa de plantas que acumulam grandes quantidades do contaminante de interesse, chamadas de hiperacumuladoras, bem como pela potencialização do processo através da melhoria das condições agronômicas, como adubação, consorciação de espécies e inoculação de microrganismos.

A inoculação de microrganismos em plantas tem sido pesquisada e utilizada na agricultura, com bons resultados no que diz respeito ao aumento de produtividade das culturas. Em estudo sobre o efeito da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares exóticos, da acidez do solo e de fontes de fósforo no crescimento e na composição mineral de plantas de milho, Costa *et al* (2002) concluíram que a inoculação promoveu maiores concentrações de P, K e Cu nas folhas de milho, em condições de solo não corrigido. Riter Netto *et al* (2014) avaliaram os efeitos de diferentes espécies de FMA e de doses de fósforo sobre a produção de fenóis totais, o crescimento vegetal e o conteúdo de nitrogênio, fósforo e potássio na massa seca da parte aérea do maracujazeiro doce, concluindo que as espécies de fungos micorrízicos arbusculares estudadas proporcionaram incrementos nos conteúdos de fenóis totais, N, P e K na parte aérea das plantas de *Passiflora alata*.

Contudo, essa abordagem ainda é pouco explorada na fitorremediação de áreas contaminadas, apesar de apresentar potencial para tal. Em trabalho sobre os efeitos da inoculação de bactérias resistentes a metais e promotoras de crescimento na disponibilidade de cobre no solo, no crescimento e na absorção de cobre pelo milho, Sheng *et al* (2012) observaram maior conteúdo de cobre na raiz e na parte aérea do milho nas plantas inoculadas, em comparação com plantas não inoculadas.

Embora seja crescente o interesse por fungos micorrízicos e por bactérias de vida livre no meio endofítico, o uso ainda é reduzido quando comparado ao uso de bactérias nodulíferas na forma de inoculantes (BARBOSA *et al*, 2015).

Sendo assim, o presente trabalho visa contribuir para esse campo de estudo, através da realização de dois experimentos em casa de vegetação. Em um deles foi avaliada a fitorremediação de solo contaminado com cobre, e no outro a fitorremediação de solo contaminado com zinco. Em ambos a espécie utilizada foi o milho (*Zea mays*), e foi avaliada a influência da inoculação com fungo micorrízico arbuscular (*Rhizophagus clarus*) no processo de descontaminação.

2. Objetivos

O estudo tem como objetivo geral avaliar o desempenho do milho (*Zea mays*) inoculado com fungo micorrízico arbuscular (*Rhizophagus clarus*) como fitorremediador de solos contaminados por cobre e zinco.

Como objetivos específicos, a pesquisa pretende:

- ✓ Avaliar a influência da contaminação por metais (Cu e Zn) na colonização micorrízica;
- ✓ Avaliar, nas diferentes doses de metais aplicadas:
    - A absorção dos metais pelo milho (*Zea mays*), tanto na parte aérea quanto na raiz;
    - A influência da inoculação micorrízica na absorção dos metais pelo milho (*Zea mays*), tanto na parte aérea quanto na raiz;
    - Os parâmetros biométricos das plantas;

- A influência da inoculação micorrízica nos parâmetros biométricos do milho (*Zea mays*);

✓ Avaliar a influência da fitorremediação e da inoculação micorrízica na alteração do pH do solo;

3. Revisão bibliográfica

3.1. Áreas contaminadas

As atividades antrópicas têm causado, ao longo de toda sua história, uma série de modificações nos ambientes naturais. Essas intervenções foram e são necessárias ao desenvolvimento humano, entretanto, pela falta de uma visão global e holística, muitas ações acabam por trazer benefícios apenas para alguns, enquanto o ônus se estende para a sociedade e o meio ambiente. Um desses prejuízos é a contaminação do meio ambiente, que pode inviabilizar sua utilização pelo homem e pelas outras espécies.

Segundo a EUGRIS (2015), uma área contaminada é aquela que contém substâncias em níveis os quais não estão normalmente presentes na mesma. Dessa forma, a contaminação pode ser entendida como uma alteração dos padrões de qualidade ambiental de uma determinada área.

Em definição do Ministério do Meio Ambiente, entende-se por área contaminada:

> "...área, terreno, local, instalação, edificação ou benfeitoria que contenha quantidades ou concentrações de quaisquer substâncias ou resíduos em condições que causem ou possam causar danos à saúde humana, ao meio ambiente ou a outro bem a proteger, que nela tenham sido depositados, acumulados, armazenados, enterrados ou infiltrados de forma planejada, acidental ou até mesmo natural. " (BRASIL, 2015)

Há de se ressaltar que muitas vezes os conceitos de contaminação e de poluição se misturam. De uma maneira geral, a poluição pode ser entendida como um

nível de contaminação que causa danos à saúde humana, ao meio ambiente, à sociedade ou à economia.

O referido órgão ainda expõe que os contaminantes podem concentrar-se no solo,nos sedimentos, nas rochas, nos materiais utilizados para aterrar os terrenos, nas águas subterrâneas e até nas estruturas das construções como paredes e pisos.

Além disso, ressalta a interdependência entre os diversos compartimentos ambientais, motivo pelo qual a contaminação se movimenta através do solo, água, ar e seres vivos, de uma maneira geral.

Os tipos de contaminantes estão presentes em grande quantidade e variedade no meio ambiente, e são oriundos do seu uso deliberado ou de processos que não fazem o adequado tratamento ou destinação dos seus rejeitos (ALEXANDER, 1994). Dente os principais geradores, destacam-se a indústria e a agricultura. Com relação às características químicas, os principais contaminantes orgânicos são os poluentes orgânicos persistentes, amplamente encontrado nos defensivos agrícolas, bem como os hidrocarbonetos, gerados em sua maioria pela indústria petrolífera. No que diz respeito aos contaminantes inorgânicos, destacam-se os metais pesados, oriundos de diversas atividades industriais e presente também em pesticidas.

3.1.1. Áreas Contaminadas no Brasil

A Resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), dispõe sobre critérios e valores orientadores dequalidade do solo quanto à presença desubstâncias químicas e estabelece diretrizes parao gerenciamento ambiental de áreascontaminadas por essas substâncias emdecorrência de atividades antrópicas. Apesar desse importante marco normativo, o Brasil tem pouco a comemorar sobre o tema. A maioria dos estados segue sem iniciativas políticas, legislativas ou estruturais para cumprir as obrigações fixadas pela referida resolução.

Em seu artigo 38º, a Resolução determina as informações que devem constar nos relatórios de gerenciamento das áreas contaminadas, que constituirão o Banco de Dados Nacional sobre Áreas Contaminadas. Entretanto, até o momento da

realização deste trabalho (2016), estão disponibilizados no banco de dados apenas informações dos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo.

No ano de 2014, conforme apresentado no *gráfico 1*, foram registradas 577 áreas contaminadas ou reabilitadas para o estado de Minas Gerais, 270 para o Rio de Janeiro e 5148 para São Paulo, segundo os relatórios dos respectivos órgãos ambientais estaduais.

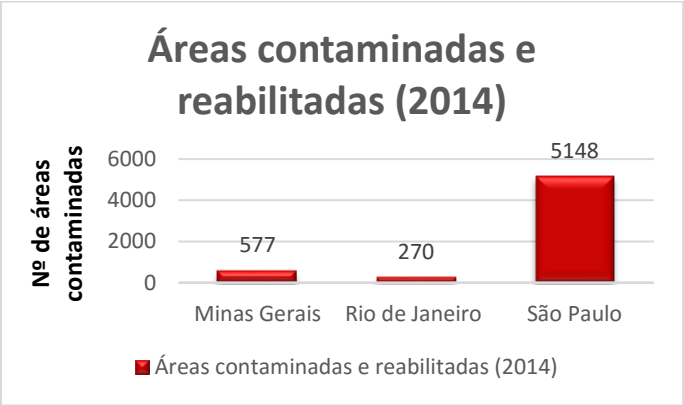

Gráfico 1: Número de áreas contaminadas e reabilitadas nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, no ano de 2014

O maior número de áreas cadastradas no estado de São Paulo é resultado não só de sua alta atividade industrial, mas também da maior organização e estruturação de seu órgão ambiental em relação aos outros estados brasileiros. No *gráfico 2* é possível observar a evolução na quantidade de áreas cadastradas nesse estado.

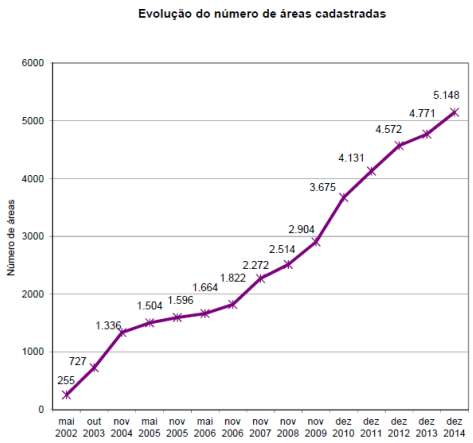

Gráfico 2: Evolução do número de áreas contaminadas e reabilitadas cadastradas no estado de São Paulo, de 2002 a 2014. Fonte: CETESB

É importante salientar que, principalmente no Brasil e em outros países em desenvolvimento, espera-se um grande aumento do número de áreas contaminadas,

tanto pelo aumento da industrialização quanto pelo aumento da capacidade de identificação e fiscalização dessas áreas, por meio da estruturação dos órgãos responsáveis e aplicação de políticas de controle da qualidade ambiental.

De acordo com o relatório da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), a atividade que mais contribuiu para a contaminação das áreas foi a de postos de combustíveis (*gráfico 3*), seguida pelo setor industrial, comercial, de tratamento e disposição de resíduos, agricultura e acidentes.

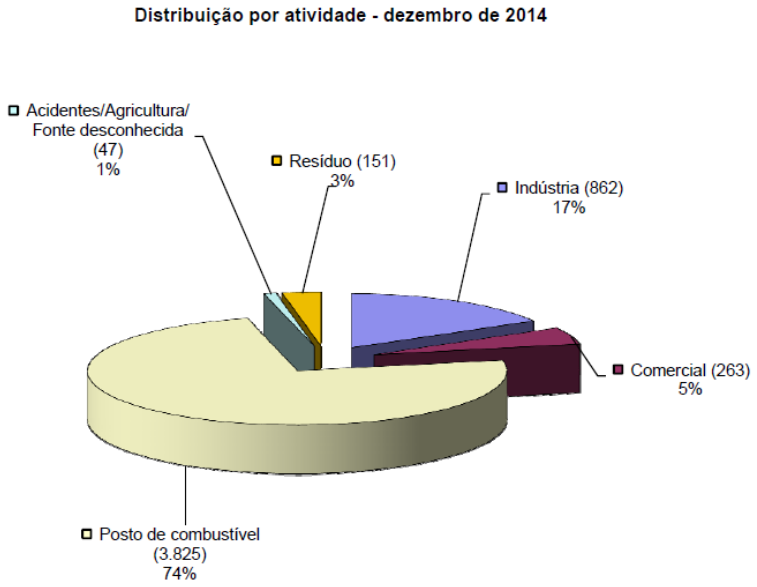

Gráfico 3: Distribuição das áreas contaminadas no Estado de São Paulo, pela fonte de contaminação, no ano de 2014. Fonte: CETESB

Com relação ao tipo de contaminante, a maioria das áreas apresentou compostos relacionados aos combustíveis líquidos, como solventes aromáticos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), e metais (*gráfico 4*).

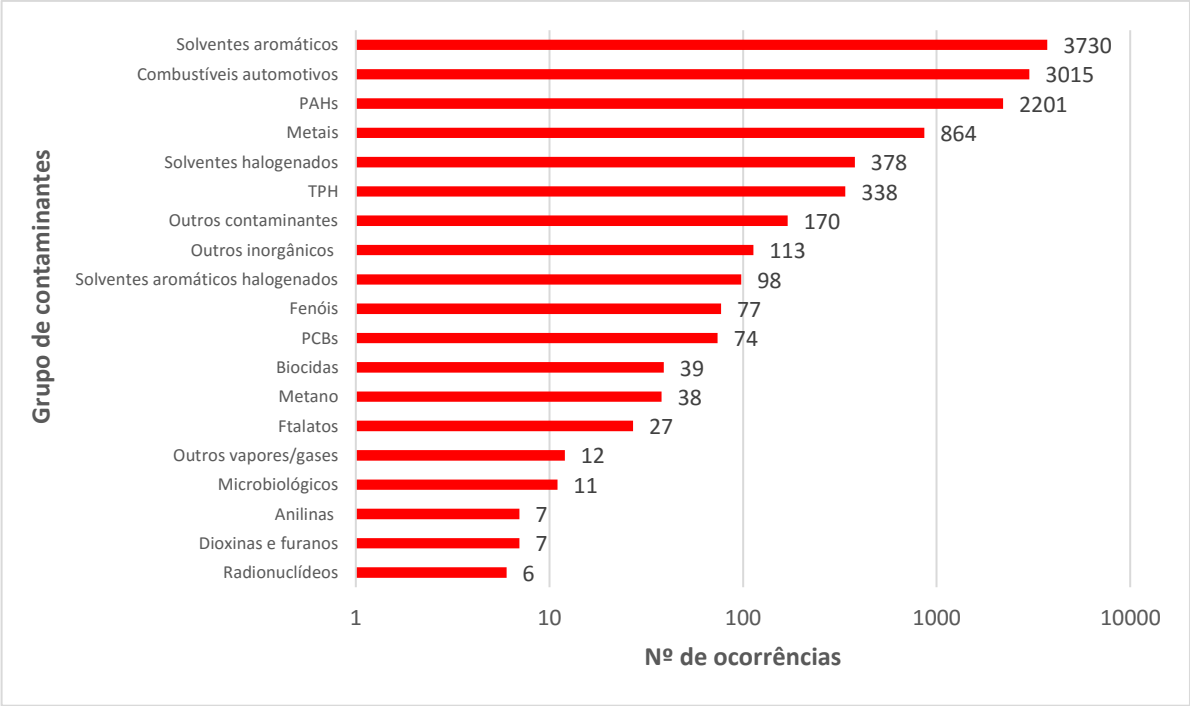

Gráfico 4: Número de áreas contaminadas no Estado de São Paulo, por grupo de contaminantes, no ano de 2014. Fonte: CETESB

Tendências similares foram observadas nos estados do Rio de Janeiro, pelo Instituto Estadual do Ambiente (INEA) e em Minas Gerais, pela Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM). Nesse último, entretanto, ressalta-se também grande contribuição da indústria metalúrgica, das atividades minerárias e de ferrovias, responsáveis por contaminações por metais.

3.2. Contaminação por metais pesados

3.2.1. Os metais pesados

A definição do termo metal pesado pode levar em consideração aspectos puramente químicos, físico-químicos, biológicos ou toxicológicos (ou ecotoxicológicos). Em seu estudo sobre a significância do termo, Duffus (2002) concluiu que o entendimento da biodisponibilidade é a chave para avaliar o potencial de toxicidade dos elementos metálicos e seus compostos, bem como para uma classificação mais apropriada. De acordo com Lima (2011), metal pesado é um

conceito em evolução, antigamente baseado apenas na massa específica do elemento, e atualmente incorporando questões ambientais e toxicológicas em sua definição.

Dentre os elementos considerados como metais pesados, alguns são necessários aos seres vivos, considerados como micronutrientes - Cu, Zn, Fe, Mn, Ni e Mo, enquanto outros são considerados como elementos não essenciais - Pb, Cd, Cr e Hg - (ZEITOUNI, 2003).

3.2.1.1. Metais pesados no ambiente

Os metais pesados estão presentes na natureza, em quantidades consideradas traço, entretanto o homem modifica sua concentração e especiação química no meio ambiente. A quantidade da maioria dos elementos traço depositada nos ecossistemas, pelas atividades antropogênicas, é frequentemente maior que as quantidades depositadas naturalmente, por isso a poluição ambiental é um dos maiores fatores de destruição dos componentes da biosfera (KABATA-PENDIAS, 2010).

O solo pode reter o cobre por troca catiônica ou adsorção específica, sendo este metal adsorvido fortemente pela maioria dos constituintes do solo. O zinco pode ser adsorvido prontamente por carbonatos e hidróxidos, além de formar complexos com compostos orgânicos e inorgânicos, no entanto pode ser mais facilmente carreado pela água da chuva devido à elevada solubilidade de seus compostos (DOD,1994).

Diversos parâmetros são responsáveis pela concentração, mobilidade e disponibilidade dos metais pesados no solo, dentre os quais destacam-se o pH, potencial redox, capacidade de troca catiônica (CTC), textura, matéria orgânica, presença de óxidos e hidróxidos (principalmente de Fe, Mn e Al), além dos microrganismos presentes (KABATA-PENDIAS, 2010). A composição dos solos também se diferencia geograficamente, devido a características climáticas e do material que lhe deu origem.

Kabata-Pendias (2010) dividiu as diferentes frações dos metais no solo em: facilmente trocável ou solúvel em água, especificamente adsorvido, ligado à matéria orgânica, retido por óxidos e hidróxidos de Fe e Mn, e ligado estruturalmente aos

minerais (residual). Em seu trabalho, Waterlot (2013) dividiu as frações em: trocável (solúvel em água e ácido), redutível (ligado a óxidos e hidróxidos de Fe e Mn), oxidável (ligado à matéria orgânica e sulfetos) e residual (ligada aos minerais de silicato).

Outro importante aspecto desses elementos está em sua relação com os seres vivos. Os metais pesados podem se acumular nos organismos, fenômeno conhecido como bioconcentração, que por sua vez pode acarretar o aumento da concentração dos mesmos ao longo da cadeia alimentar, no processo denominado biomagnificação (LIMA, 2011).

3.2.2. Áreas contaminadas por metais pesados

Diversas pesquisas têm revelado a grande quantidade de áreas contaminadas por metais pesados em todo o mundo, tanto em áreas urbanas quanto em áreas rurais. Nas primeiras, as atividades industriais e a utilização de combustíveis fósseis são as principais responsáveis pela poluição, enquanto nas últimas, a utilização excessiva de defensivos agrícolas e fertilizantes químicos tem aumentado os níveis de metais pesados no solo. A mineração é outra atividade que tem contribuído com relevância para a degradação ambiental, sobretudo para contaminação com esses elementos (LIU *et al*, 2004; BIASIOLI *et al,* 2006; VALLADARES *et al*, 2007;MANTOVANI, 2009; KABATA-PENDIAS, 2010; HAMZEH *et al,* 2011; WEI *et al,* 2014).

A queima de combustíveis fósseis, para as mais diversas finalidades, tem sido relacionada como uma importante fonte desse tipo de poluição. Biasioli *et al* (2006) avaliaram a contaminação do solo na cidade de Torino – Itália, e constataram altas concentrações de Pb, Zn e Cu, sendo o primeiro o que apresentou níveis mais elevados. Segundo esse autor, grande parte da poluição se deve ao tráfico de veículos.

Em seu estudo sobre poluição e avaliação de risco à saúde, Wei *et al* (2014) concluíram que as concentrações de Cr, Cu, Zn, Cd e Pb no material particulado do ar de diferentes áreas da cidade de Pequim - China, estavam maiores que os valores naturais do solo, indicando poluição antrópica. Além disso, a avaliação de risco de câncer devido ao Cr mostrou-se maior que o tolerável.

Hamzeh *et al* (2011) observaram a elevação dos níveis de Cd, Cr, Cu, Pb, Sn e Zn com a aproximação do centro da cidade de Kerman – Iran, em comparação aos níveis encontrados em ambientes naturais, relacionando o aumento principalmente à emissão de gases veiculares.

Em 1985, o colapso de uma barragem de rejeitos em minas de Pb e Zn, em Hunan – China, ocasionou a contaminação de áreas rurais na bacia do Rio Dong. Cerca de setenta anos mais tarde, Liu e colaboradores (2004) avaliaram a contaminação de cultivos agrícolas no local, concluindo que os solos e os cultivos ainda continuam severamente contaminados com As, Cd, Zn, Pb e Cu, pondo em risco a saúde humana.

Recentemente o Brasil vivenciou a maior tragédia ambiental de sua história. Em 2015, o rompimento de uma barragem de rejeitos de mineração localizada em Mariana-MG liberou cerca de 60 milhões de metros cúbicos de lama, deixou 19 mortos e um rastro de destruição que se estendeu até o litoral, cerca de 650 quilômetros distantes da cidade mineira (COSTA, 2015; DE OLIVEIRA, 2016).

Com relação às atividades agrícolas, importantes estudos têm sido realizados, comprovando a degradação da qualidade dos solos.

A calda bordalesa [CuSO4.5H2O +Ca (OH2)] é um produto usado no combate de doenças e parasitas de plantas frutíferas. Parte da calda pulverizada nas folhas é depositada no solo, imediatamente pela ação da água ou na senescência das folhas, promovendo ao longo do tempo o acúmulo deste elemento no solo (MANTOVANI, 2009).

Santos e colaboradores (2012) avaliaram a contaminação por cobre em solos de vinhedos da região Sul do Brasil, e constataram que a longa história de aplicação de fungicidas cúpricos apresentaram níveis tóxicos de Cu para plantas de batata.

Valladares e colaboradores (2007) estudaram a variabilidade espacial e disponibilidade de cobre e zinco em solos de vinhedos e adjacências da Região Vitícola de Jundiaí – SP, observando correlação positiva entre os teores dos elementos no solo com as áreas cultivadas.

Em seu trabalho sobre o potencial de fitorremediação do milho em solos contaminados pela aplicação de fungicidas, utilizados na cultura da uva, Tiecher et al (2016) observaram altos teores biodisponíveis de cobre e zinco (120,8 mg/kg e 18,7 mg/kg, respectivamente) na área de produção, enquanto em área natural nas adjacências os teores observados foram bastante inferiores (0,7 mg/kg e 0,9 mg/kg).

De acordo com Kabata-Pendias (2010), os fertilizantes fosfatados são considerados uma importante fonte de metais pesados em solos agrícolas, e a acidificação desses ambientes, observada nas últimas décadas, devido principalmente as chuvas ácidas, pode ocasionar o aumento da mobilidade desses elementos, acarretando em maior biodisponibilidade e lixiviação para os corpos hídricos.

3.3. Remediação de áreas contaminadas

Com o aumento da população mundial e da degradação de ecossistemas, cada vez menos terras estão disponíveis para os habitantes do planeta. Dentro desse contexto, torna-se imprescindível a recuperação de áreas contaminadas, visto que esses locais acarretam prejuízos econômicos, ambientais e para a saúde humana.

De acordo com a Resolução nº 420 do CONAMA, de 2009, a remediação pode ser definida como uma das ações de intervenção para reabilitação de área contaminada, que consiste em aplicação de técnicas, visando a remoção, contenção ou redução das concentrações de contaminantes.

De acordo com o Decreto nº 59.263 de julho de 2013 do Estado de São Paulo, as técnicas de remediação podem ser divididas em:

- Técnicas de tratamento: destinadas à remoção ou redução da massa de contaminantes;
- Técnicas de contenção e isolamento: destinadas a prevenir a migração dos contaminantes.

As técnicas de remediação ainda podem ser classificadas de acordo com o local em que são executadas, isto é, na própria área contaminada (*in situ*) ou fora da mesma (*ex situ*).

Outra forma de classificação está relacionada com o processo de tratamento, que pode ser, biológico, físico-químico, de solidificação/estabilização e térmico (EUGRIS, 2015).

Com relação à remediação de áreas contaminadas por metais, de acordo com a solidificação/estabilização e a escavação/disposição *off-site* são as tecnologias mais comumente empregadas. As duas primeiras visam restringir a mobilidade e tornar inertes os contaminantes, por meio de sua retenção em blocos com elevada integridade estrutural (solidificação) ou através da aplicação de agentes que limitam a solubilidade do contaminante (estabilização). A escavação consiste na remoção do solo contaminado e sua destinação para um aterro de resíduos perigosos (DOD, 1994).

A seguir são apresentadas mais algumas das tecnologias de remediação mais empregadas para solos contaminados por metais.

Tabela 1: Principais tecnologias utilizadas na remediação de solos contaminados por metais. Fonte: (DOD, 1994 – Adaptado)

Tecnologia	Função
In situ – Físico-Químicas	
Solidificação/Estabilização	Imobilização
Lavagem do Solo	Extração
In situ - Térmico	
Vitrificação	Imobilização
Ex situ – Físico-Químicas (Com escavação)	
Oxidação/Redução Química	Extração
Lavagem do Solo	Extração
Solidificação/Estabilização	Imobilização
Ex situ – Térmico (Com escavação)	
Vitrificação	Imobilização
Outros	
Escavação/disposição *off-site*	Extração/Imobilização

Diversos fatores podem influenciar na escolha e no sucesso da tecnologia de remediação a ser adotada, dentre os quais se destacam os parâmetros geotécnicos e as condições de equilíbrio físico-químico e biológico do meio de interesse. Além disso, a escolha da técnica mais apropriada dependerá da qualidade da investigação ambiental, da avaliação de risco e dos estudos piloto em campo e em laboratório que irão indicar a faixa de variação dos parâmetros que influenciarão no processo (IPT-SP, 2014).

Apesar de ainda serem consideradas mais eficientes na descontaminação dos solos, as técnicas físico-químicas são consideradas mais invasivas, uma vez que alteram consideravelmente a física e/ou química da área recuperada.

A maior parte das tecnologias de remediação físico-químicas é recomendada para o tratamento de solos altamente poluídos, não sendo adequadas para solos com poluição vasta e difusa, aonde os poluentes ocorrem em baixas concentrações e superficialmente (GARBISU e ALKORTA, 2001).

3.4. Fitorremediação

A ideia de se utilizar plantas para a descontaminação de ambientes é antiga, desde a utilização para o tratamento de esgotos, há cerca de 300 anos, até a descoberta de espécies que tem a capacidade de acumular metais em seus tecidos, campo que tem gerado um grande número de pesquisas nas últimas décadas (LASAT, 2000).

Segundo Raskin e Ensley (2000), fitorremediação é uso de plantas e seus microrganismos associados em condições agronômicas otimizadas para remover, conter, transferir, estabilizar e/ou degradar, ou tornar inofensivos os contaminantes, incluindo compostos orgânicos e metais tóxicos.

De acordo com Oliveira *et al* (2007) e Pires (2003) as principais potencialidades da fitorremediação são: a viabilidade econômica, quando comparada a técnicas convencionais que envolvem escavação de solo; a compatibilidade de equipamentos e suprimentos utilizados pela agricultura; a possibilidade de degradação de compostos orgânicos; maior facilidade de monitoramento, quando comparada a técnicas que utilizam microrganismos; possibilidade de melhoria das propriedades físicas e

biológicas do solo, bem como da incorporação de matéria orgânica e nitrogênio (no caso da utilização de leguminosas); controle de processos erosivos e do fluxo descendente de água; utilização de energia solar nos processos; possibilidade de reciclagem de metais pesados; utilização em áreas extensas; grande probabilidade de aceitação pública.

Com relação às limitações da técnica, Pires (2003) e Oliveira *et al* (2007) citam a dificuldade na seleção de plantas; o curto alcance do sistema radicular, quando comparado às técnicas convencionais; a necessidade de melhoria do solo para facilitar a absorção das plantas, em alguns casos incluindo quelação do contaminante; o potencial de contaminação da cadeia alimentar; a possibilidade de restrição do desenvolvimento das plantas, ocasionada por condições climáticas; os limites de tolerância das plantas, que podem inviabilizar a adoção da técnica em locais com níveis de contaminação elevados; possibilidade de tempo elevado para a remediação da área; necessidade de destinação adequada da biomassa contaminada, no caso em que os contaminantes não são totalmente degradados; falta de mercado para comercialização das plantas fitoextratoras colhidas; o fato de ser uma tecnologia ainda em desenvolvimento, com pouco conhecimento sobre a biologia e a ecologia das plantas fitorremediadoras.

Dentre os processos envolvidos nessa tecnologia estão a fitoextração, fitoestimulação, fitotransformação (fitovolatilização e fitodegradação), fitoestabilização e rizofiltração (DE OLIVEIRA *et al*, 2007). Ressalta-se que, apesar de cada técnica ter seu uso recomendado para uma determinada situação, na prática duas ou mais técnicas se desenvolvem simultaneamente, devido à complexidade dos mecanismos envolvidos. A seguir estão resumidos os principais aspectos das técnicas mencionadas.

3.4.1. Fitoextração

A fitroextação pode ser entendida como a absorção dos contaminantes pelas raízes, onde estes podem permanecer armazenados ou podem ser transportados e acumulados na parte aérea da planta (DE OLIVEIRA *et al*, 2007). Essa técnica é aplicada principalmente em áreas contaminadas por metais, e tem como vantagens a menor massa para destinação, se comparado a tecnologias com escavação de solo,

além da possibilidade de utilizá-la como um recurso em outras áreas (EPA, 2000). O processo é ilustrado na figura abaixo (*figura 1*).

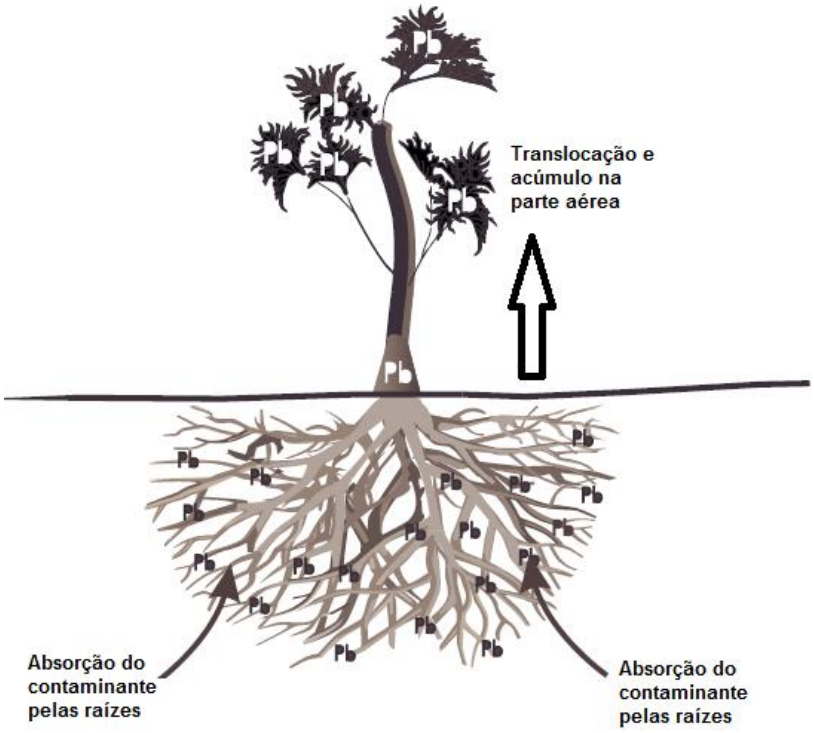

Figura 1: Mecanismo de fitoextração de contaminantes. Fonte: Adaptado de EPA (2000)

Como o objetivo dessa técnica é acumulação do contaminante nos tecidos da planta, principalmente na parte aérea, é interessante a utilização de plantas consideradas hiperacumuladoras. Plantas acumuladoras de metais são definidas como aquelas que possuem a capacidade de acumular metais em concentrações 100 vezes maiores que plantas comuns, consideradas não acumuladoras. Valores iguais ou maiores a 10 ppm de Hg; Cd 100 ppm; 1.000 ppm de Co, Cr, Cu e Pb; e 10.000 ppm de Ni e Zn, são considerados de plantas hiperacumuladoras (LASAT, 2000).

3.4.2. Fitoestimulação

No processo de fitoestimulação, o estímulo à atividade microbiana, promovido pela liberação de exsudatos radiculares, tais como aminoácidos e polissacarídeos,

que atuam na degradação de compostos no solo, caracteriza, em algumas plantas, a aptidão rizosférica para a biorremediação (DE OLIVEIRA *et al*, 2007).

A rizosfera é a zona do solo mais próxima às raízes das plantas, e nela o número de microrganismos é muito maior que em uma zona do solo sem vegetação. Além disso, essa região possui maior diversidade, atividade e sinergismo entre as comunidades microbianas, resultando em maiores taxas de degradação de compostos orgânicos (ANDERSON, 1994).

Como essa técnica é mais utilizada para contaminantes orgânicos, visando sua degradação, as espécies podem ser utilizadas para diversos fins após a remediação, como por exemplo a aplicação da adubação verde (DE OLIVEIRA *et al*, 2007).

3.4.3. Fitotransformação

A fitotransformação é a degradação de contaminantes absorvidos pela planta, através de seus processos metabólicos, ou a degradação dos contaminantes por meio da atividade de compostos (como enzimas) liberados pela planta no meio externo (EPA, 2000). Nesse caso o processo é denominado fitodegradação.

Quando a transformação do contaminante se dá pela absorção e subsequente volatilização, após a redução de sua toxicidade, o processo é denominado fitovolatilização técnica utilizada para a remediação de substâncias voláteis, como mercúrio, selênio e arsênio (DE OLIVEIRA *et al*, 2007). De acordo com a EPA (2000), a fitovolatilização também pode ser considerada como a liberação do contaminante para a atmosfera, após a absorção pela planta, mesmo sem a sua transformação.

Em ambos os casos, o conhecimento do metabolismo da planta é de grande relevância, pois permite a identificação de enzimas responsáveis pela degradação de contaminantes específicos.

3.4.4. Fitoestabilização

Segundo Schoor (1997), a técnica de fitoestabilização refere-se à manutenção dos contaminantes na área, através da imobilização dos mesmos por meio da vegetação. O estabelecimento das raízes evita a dispersão do contaminante pelo

vento, diminui a erosão do solo e a lixiviação da substância, devido ao grande volume de água absorvido e transpirado pelas plantas.

A fitoestabilização também ocorre devido às características químicas e biológicas da rizosfera, provocando uma alteração química do meio e do contaminante, que por sua vez pode ocasionar mudanças em sua solubilidade, mobilidade ou dissociação. Os mecanismos envolvidos para tal são a sorção, precipitação, complexação ou redução do estado de valência de metais (EPA, 2000).

3.4.5. Rizofiltração

De acordo com De Oliveira *et al* (2007), a técnica da rizofiltração utiliza sistemas vegetais com o objetivo de promover a remoção dos contaminantes de um meio aquoso. O processo pode se dar pela adsorção pelas raízes das plantas, bem como pela absorção dos contaminantes em solução. Algumas plantas liberam exsudatos pelas raízes, que podem causar a precipitação de alguns metais (EPA, 2000).

Essa tecnologia tem sido bastante citada na literatura, sendo recomendada para a remediação de águas subterrâneas (após bombeamento), águas superficiais e efluentes.

Plantas aquáticas têm sido utilizadas visando à melhoria da qualidade de efluentes e o tratamento de águas residuais, principalmente no que diz respeito à redução das concentrações de nitrogênio e fósforo (GRANATO, 1995).

Segundo De Oliveira *et al* (2007) as principais vantagens da rizofiltração são a intensa absorção de nutrientes, o rápido crescimento, as facilidades de retirada das lagoas e as possibilidades de aproveitamento da biomassa escolhida.

3.5. O Milho (*Zea Mays*)

O milho (*Zea mays*) é uma espécie que pertence à família *Poaceae*, apresenta grande adaptabilidade a diferentes tipos de solo e clima, elevada produção de biomassa, raízes com grande capacidade de ramificação e desenvolvimento e altura de até 2 metros (BARROS & CALADO, 2014).

Quanto a sua utilização, essa espécie é amplamente utilizada em todo o planeta, tanto na alimentação humana quanto na alimentação animal. Na geração de energia, o milho também tem importante participação, podendo ser utilizado como biocombustível ou como biomassa. A produção de etanol dos Estados Unidos e da China vem principalmente desse cultivar (BRASIL, 2007). De acordo com a Agência Nacional de Energia Elétrica (2008), a energia de biomassa é obtida pelo processamento de resíduos agrícolas e florestais, e no caso do milho são utilizados o sabugo, o colmo, a folha e a palha.

Com relação à sua aplicação no campo da fitorremediação, o milho tem sido utilizado com frequência em testes de fitoextração por satisfazer critérios como: grande produção de biomassa, crescimento rápido e alta tolerância a metais (TIECHER *et al*, 2016). Nesse caso, a biomassa produzida no processo pode ser utilizada principalmente como fonte de energia, uma vez que o alto teor de contaminantes inviabiliza seu uso na alimentação humana ou animal.

Sheng *et al* (2012) avaliaram os efeitos da inoculação de bactérias nas raízes do milho, concluindo que a parceria planta-microrganismos tem potencial para a produção de energia de biomassa conciliada à fitorremediação.

De acordo com Novais (2013), além da alta taxa de crescimento e da elevada absorção de nutrientes, o milho apresenta alta capacidade de captação de nutrientes por meio das micorrizas (micotrofia), tornando-o um hospedeiro ideal para avaliar a variabilidade funcional dos FMA.

Pereira (2005) avaliou o potencial fitorremediador de feijão-de-porco, girassol e milho em um solo contaminado com chumbo, concluindo que o milho e o feijão-de-porco apresentaram os melhores resultados, com o primeiro acumulando grandes quantidades do metal mesmo na ausência do agente quelante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético).

Estudando uma área de produção de uva, poluída pela aplicação de fungicidas, Tiecher *et al* (2016) concluíram que o milho pode ser uma alternativa para a remediação de solos contaminados simultaneamente por cobre e zinco em baixas concentrações, e que os efeitos negativos desses metais no desenvolvimento da planta aumentam com a diminuição quantidade de matéria orgânica no solo.

3.6. Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA)

De acordo com Azevedo (1998), microrganismos endofíticos são principalmente fungos e bactérias que vivem no interior das plantas (*figura 2*), tanto em suas raízes quanto nas partes aéreas, conferindo-lhes maior resistência ao ataque de pragas e doenças, além de executar outras funções de importância para o organismo hospedeiro e produzir substâncias de interesse biotecnológico.

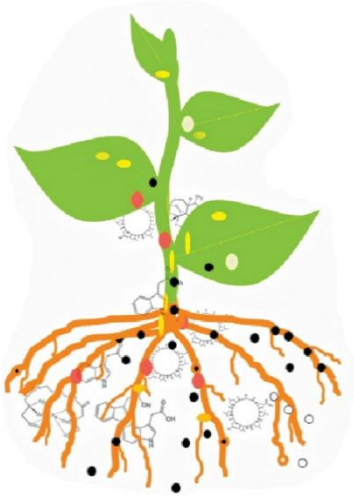

Figura 2: Microrganismos que habitam o interior das plantas, representados pelos círculos coloridos. Fonte: Adaptado de BRADER et al (2014)

As interações entre micro-organismos endofíticos e plantas são altamente complexas, contudo, seu estudo é de fundamental importância para a aplicação prática em diversas áreas da ciência, incluindo agricultura, fitorremediação e revegetação de áreas degradadas (BARBOSA *et al*, 2015).

Dentre os diversos microrganismos que habitam o interior dos tecidos vegetais, destacam-se as bactérias nodulíferas e os fungos micorrízicos, conhecidos por sua colaboração na aquisição de nutrientes pelas plantas.

A simbiose estabelecida entre os fungos do solo e as raízes das plantas formam as micorrizas (HOFFMANN, 2006). Atualmente, são reconhecidos seis tipos diferentes de associações micorrízicas: Arbuscular, Arbutóide, Ericóide, Ecto, Monotropóide e Orquidóide, sendo algumas delas muito específicas, encontradas em apenas algumas famílias de plantas terrestres (BERBARA *et al*, 2006).

3.6.1. Caracterização

Segundo Berbara *et al* (2006), os fungos micorrízicos arbusculares são simbiontes obrigatórios, isto é, só completam seu ciclo de vida quando associados a plantas compatíveis. Estão presentes em cerca de 80% das famílias de plantas, sendo este tipo de simbiose micorrízica a mais ancestral já conhecida. Sua importância reside em seu papel vital para a sustentabilidade da agricultura e seu potencial biotecnológico, com impacto na estrutura de comunidades vegetais e na drenagem de carbono atmosférico.

De acordo com HOFFMANN (2006), são estruturas características dos FMA as hifas, as vesículas e os arbúsculos. Segundo BONFANTE-FASOLO (*apud* HOFFMANN, 2006) arbúsculos e vesículas podem ser definidos da seguinte maneira:

> Os arbúsculos originam-se da penetração de células corticais pela hifa causando invaginação da membrana plasmática. São os principais locais de troca de metabólitos e assim, do ponto de vista fisiológico, a principal estrutura da simbiose, sua vida é de 4 a 5 dias, período após o qual sofrem degeneração, e então a célula volta a ter atividade normal.
>
> Vesículas são corpos globosos, inter ou intracelulares, com tamanho de 30 a 100mm; ricas em lipídeos, o que sugere tratar-se de órgãos de reserva.

Os esporos são multinucleados, podendo apresentar centenas a milhares de núcleos, e sua germinação ocorre na superfície da raiz. Apesar de ainda persistir uma incerteza sobre o mecanismo envolvido, supõe-se que a presença da planta seja percebida pelo fungo, uma vez que seu esporo só germina na presença da mesma. A penetração no meio inter e intracelular é facilitada pela ação mecânica e enzimática das hifas (BERBARA *et al*, 2006; BONFANTE-FASOLO, 1984*apud* HOFFMANN, 2006).

A extensão das hifas extra-radiculares e seu impacto sobre o volume do solodependem, principalmente, das características radiculares e da textura do solo; raízes mais finas tendem a induzir maiores comprimentos de hifa (BERBARA *et al*, 2006).

3.6.2. Rhizophagus clarus

A história taxonômica dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) é relativamente recente, motivo pelo qual sua classificação, tem sofrido constantes alterações, principalmente devido ao avanço das técnicas de biologia molecular e sequenciamento de rDNA (SILVA, 2004).

De acordo com Schüßler e colaboradores (2001), os fungos micorrízicos formam o filo *Glomeromycota*. Dentro deste, a espécie *Rhizophagus clarus* faz parte da família Glomeraceae (INVAM).

3.6.2.1. Aplicação

A utilização das micorrizas é um campo em expansão, com diversas possibilidades de exploração, por isso vários estudos têm sido desenvolvidos, principalmente com finalidade de aplicação agrícola.

Novais (2013) *et al* avaliaram diversas espécies e genótipos de fungos micorrízicos arbusculares, com relação à colonização das raízes, crescimento e absorção de fósforo em milho, concluindo que a espécie *Rhizophagus clarus* esteve entre as mais eficientes.

No trabalho realizado por Felisberto (2013), que avaliou a eficiência simbiótica de inoculantes na produção de mudas de cebola, a inoculação *Allium cepa L.* com *Rhizophagus clarus* e *Claroideoglomus etunicatus* favoreceu o crescimento, a produção de fitomassa e a absorção da nutrição fosfatada pelas plantas, em condições controladas, ao passo que, no campo, a aplicação do inoculante a base de *Rhizophagus clarus* demonstrou maior capacidade de colonização e competição com as espécies nativas.

Ortas e Ustuner (2014) avaliaram, em casa de vegetação, os efeitos de espécies de fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e na absorção de nutrientes de mudas de Citrus aurantium L, concluindo que a espécie *Rhizophagus clarus* teve um efeito significativo sobre a concentração de zinco na planta, bem como no seu crescimento.

No campo da fitorremediação as pesquisas com FMA são relativamente mais recentes e mais escassas. Moser (2013) avaliou a inoculação de *Crotalaria juncea* com *Rhizophagus clarus* e a aplicação de fósforo na remediação de solo com altos teores de Cu, observando incrementos na produção de matéria seca das plantas, diminuição na atividade enzimática de fosfatase ácida e da disponibilidade de Cu no solo.

Santana (2014) estudou o efeito da inoculação do fungo *Rhizophagus clarus* e da adição do vermicomposto de bagaço de uva na fitorremediação de um solo arenoso com alto teor de Cu, por *Canavalia ensiformis*, concluindo que a fitoestabilização foi melhor sucedida na presença do fungo e do vermicomposto na dose de 20 mg P /kg, e que a fitoextração foi maior sem a inculação do fungo, com o vermicomposto na dose de 40 mg P /kg.

4. Materiais e Métodos

Foram realizados dois experimentos, simultaneamente, em casa de vegetação do Laboratório de Microbiologia de Solos, da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Em ambos, o solo foi autoclavado, contaminado (um experimento com Zn e outro com Cu), disposto em vasos, inoculado com *Rhizophagus clarus* e semeado com *Zea mays*. Os ensaios foram realizados em quadriplicata, para 4 doses de contaminação, com e sem a inoculação do fungo micorrízico, totalizando 8 tratamentos (32 com as repetições). A seguir são detalhados os materiais e métodos utilizados.

4.1. Solo

Para a realização do experimento, utilizou-se solo classificado como Latossolo Amarelo, predominantemente argiloso, coletado na profundidade de 0-20 cm e peneirado em malha de 2 mm. Com o objetivo de redução do teor de fósforo, o solo foi misturado com areia lavada na proporção de 1:1 (v:v).

O solo utilizado foi previamente caracterizado pela Fundação Norte Fluminense de Desenvolvimento Regional, apresentando as seguintes características químicas:

Tabela 2: Características químicas do solo antes da contaminação. MO – Matéria Orgânica, CTC – Capacidade de Troca Catiônica, SB – Soma de Bases Trocáveis, V – Índice de Saturação de Bases, m – Índice de Saturação de alumínio, ISNa – Índice de Saturação de Sódio.

Parâmetro	pH	S-SO_4 (mg/dm³)	P (mg/dm³)	K	Ca	Mg	Al	H+Al	Na
				(mmol/dm³)					
Valor	5,0	19	12	2,6	15,1	9,2	0,0	17,6	2,1
Parâmetro	C	MO	CTC	SB	V	m	ISNa		
	(g/dm³)		(mmol/dm³)			(%)			
Valor	7,9	13,62	46,6	29,0	62	0	5		
Parâmetro	Fe	Cu	Zn	Mn	B				
			(mg/dm³)						
Valor	70,27	0,25	3,57	19,85	0,49				

O solo foi pesado, distribuído em sacos plásticos (3 kg), e autoclavado, à 121ºC e 1,1 atm, durante uma hora, repetindo-se o procedimento após 24 horas. Ao fim do processo o solo foi levado para a casa de vegetação, onde permaneceu em repouso por cerca de 20 dias.

Uma vez que o presente trabalho visa avaliar o potencial de fitorremediação principalmente em áreas agrícolas, onde a contaminação ocorre de maneira difusa e em níveis relativamente baixos quando comparados a áreas contaminadas por atividades industriais, a escolha das doses de contaminação baseou-se nos valores investigação para áreas agrícolas, estipulados na Resolução CONAMA nº 420, de 28 de dezembro de 2009, e apresentados abaixo.

Tabela 3: Valores orientadores de Investigação, para áreas agrícolas (CONAMA, 2009)

Metal	Valor de Investigação (Agrícola)
Cu	200
Zn	450

Para ambos experimentos, o desenvolvimento das plantas foi avaliado em solos contaminados em três doses, além de solos onde não se realizou a contaminação (controle – dose 0). Para a contaminação do solo, foram preparadas as soluções com água deionizada com sulfato de zinco ($ZnSO_4.7H_2O$) e água deionizada

com sulfato de cobre ($CuSO_4.5H_2O$), nas diferentes doses a serem aplicadas. Para o experimento de contaminação com Zn, as doses aplicadas foram de 300, 600 e 900 mg/kg, enquanto que para o experimento de contaminação com Cu, as doses aplicadas foram de 100, 200 e 400 mg/kg. As soluções foram misturadas ao solo em bandejas plásticas, e o solo contaminado foi distribuído em vasos plásticos de 3 kg, previamente lavados e desinfetados com hipoclorito 0,05%.

Além de contaminação, realizou-se, simultaneamente, a adubação do solo com cloreto de potássio (KCl), também por meio de solução com água deionizada, na dose 50 ppm de K. Essa aplicação foi realizada devido ao baixo teor de potássio no solo, observado na caracterização inicial. Após a adubação, efetuou-se a análise da concentração de potássio no solo, por espectrofotometria de absorção atômica, e o solo apresentou teor médio de potássio de 145,91 mg/kg.

Após a contaminação e adubação, os vasos permaneceram em repouso por cerca de 21 dias, na casa de vegetação, mantando-se a umidade constante com água deionizada.

No dia do plantio, foram coletadas amostras de cerca de 30 g de solo de cada vaso, para análise da contaminação e do pH, com a utilização de trado de mão, na parte central dos vasos. As amostras foram acondicionadas em potes de plásticos e secas ao ar.

4.2. Inóculo

A inoculação foi realizada no dia do plantio das sementes. O inóculo de *Rhizophagus clarus* foi cedido pelo Laboratório de Microbiologia de Solos, da Universidade Estadual do Norte Fluminense. A contagem de esporos do inóculo foi realizada por meio da separação através de centrifugação em solução de sacarose e em peneira de 0,053 mm. Aplicou-se 50 g de inóculo por vaso, que contabilizaram uma média de 533 esporos/vaso.

4.3. Sementes

Para o plantio, foram utilizadas sementes de *Zea mays* - híbrido UENF506/2012, cedidas pelo Laboratório de Tecnologia de Sementes, da

Universidade Estadual do Norte Fluminense, com taxa de germinação de 80%. As sementes foram lavadas em solução de hipoclorito 0,05% por 20 minutos, para garantir a não inoculação das mesmas, e plantadas (5 em cada vaso).

4.4. Determinações Analíticas

O experimento foi conduzido durante 60 dias, devido ao fato das plantas terem reduzido consideravelmente sua taxa de crescimento com esse período de tempo. Foram realizadas medições de altura, diâmetro do caule e contagem do número de folhas, quinzenalmente; pesagem da matéria seca (parte aérea e raiz) das plantas, no tempo final; concentração de Cu e Zn na parte aérea e na raiz das plantas, no tempo final; análises de concentração pseudo total e biodisponível de Cu e Zn no solo, no tempo inicial e final; pH do solo, no tempo inicial e final; e análise da colonização micorrízica, no tempo final. As plantas foram periodicamente irrigadas com água deionizada, de acordo com a necessidade. Com 18 dias de experimento, realizou-se o desbaste das plantas, deixando apenas 3 plantas por vaso, e no 43º dia do experimento, os vasos foram adubados com 20 mg/kg de N, através da aplicação solução de NH_4NO_3.

4.4.1. Altura, diâmetro do caule e contagem do número de folhas

As medições foram realizadas com régua (altura), paquímetro digital (diâmetro do caule) e visualmente (contagem do número de folhas).

4.4.2. Pesagem e análise do teor de Cu e Zn no material vegetal

O material vegetal foi seco em estufas com circulação de ar, à cerca de 65 º C. Posteriormente, foi pesado, e para a análise do teor de Cu e Zn, foram misturados 0,1 g com 2 ml de HNO_3 concentrado em tubos de ensaio, que foram levados ao bloco digestor à 150 º C, até a redução do volume para aproximadamente 5 ml. Após o resfriamento das amostras, adicionou-se 2 ml de H_2O_2, repetindo-se a operação com a adição de 0,5 ml de H_2O_2, até o clareamento do extrato. Por fim, completou-se o volume para aproximadamente 10 ml, com a adição de HNO_3 diluído, para a leitura do

extrato em espectrômetro de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (IPC – AES).

4.4.3. Análise de pH do solo

Para as análises de pH, foram cachimbados 10 cm^3 de solo em copos plásticos, que foram misturados com 25 ml de água deionizada e deixados em repouso por 1 hora, procedendo-se então a leitura em potenciômetro com eletrodo combinado (EMBRAPA, 1997).

4.4.4. Análise da colonização micorrízica

Para a avaliação da colonização micorrízica, as raízes frescas foram lavadas em água corrente, separando-se as raízes mais finas, que foram armazenadas em álcool etílico 50%. A coloração das raízes foi realizada com azul de metila, de acordo com a metodologia descrita por Grace e Stribley (1991), com as seguintes adaptações (KOH 2,5% por 5 minutos, HCL por 5 minutos). Após a coloração, as raízes foram cortadas em pedaços (10 para cada amostra) de aproximadamente 2 cm e fixadas em lâminas com glicerol.

Para o cálculo da porcentagem de colonização, as lâminas foram observadas no microscópio ótico, sendo considerado o percentual de 10% de colonização para cada pedaço de raiz em que pelo menos uma estrutura fúngica foi observada.

4.4.5. Análise de Cu e Zn no solo

A análises de concentração pseudo total foram realizadas de acordo com o método 3050B (USEPA, 1996), adaptado. Foram pesados 0,5g das amostras de solo, previamente maceradas com um almofariz, que foram acondicionadas em erlenmeyers de 125 ml, juntamente com 2,5 ml de ácido nítrico. Cerca de 12 horas depois, foram adicionados 2,5 ml de água deionizada e as amostras foram colocadas no bloco digestor, por cerca de 30 min, à aproximadamente 95 º C. Após o resfriamento das mesmas, adicionou-se 2,5 ml de ácido nítrico, digerindo-se as amostras novamente, por cerca de 2 horas, à aproximadamente 95 º C. Resfriou-se

as amostras novamente, e foram adicionados mais 1 ml de água deionizada e 1,5 ml de H_2O_2, realizando nova digestão, posteriormente repetida com a adição de mais 1 ml de H_2O_2, até que amostra fosse clareada. Por fim, uma nova digestão foi realizada com a adição de 5 ml de HCl, e o volume das amostras foi completo com água deionizada para 50 ml, deixando-as em repouso para posterior leitura em espectrômetro de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (IPC – AES).

As análises de concentração biodisponível foram realizadas de acordo com o método Mehlich 1 (EMBRAPA, 1997). Foram cachimbados 5 cm^3 das amostras de solo, que foram misturadas à 50 ml de solução Carolina do Norte (0,0125 mol/L de H2SO4 e 0,050 mol/L de HCL), em erlenmeyers de 125 ml. Os frascos foram submetidos à agitação (200 rpm) por 10 mim e deixados em repouso para a sedimentação. Posteriormente o extrato foi pipetado e disposto em tubos de vidro para leitura em espectrômetro de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (IPC – AES).

4.4.6. Análise estatística dos resultados

Para análise estatística dos resultados, foi utilizado o programa Design Expert 10, por meio do método fatorial completo, com 2 níveis para a variável “Inoculação de FMA” (Inoculado e Não-inoculado), e 4 níveis para a variável “Dose” (níveis de contaminação 0, 1, 2 e 3). O programa gerou modelos para cada resposta analisada, em função das variáveis trabalhadas.

5. Resultados e Discussão

A seguir, os resultados encontrados são detalhados e analisados.

5.1. Colonização micorrízica

A colonização micorrízica das raízes das plantas sofreu forte influência da dose de contaminante aplicado, decrescendo com aumento da concentração dos metais.

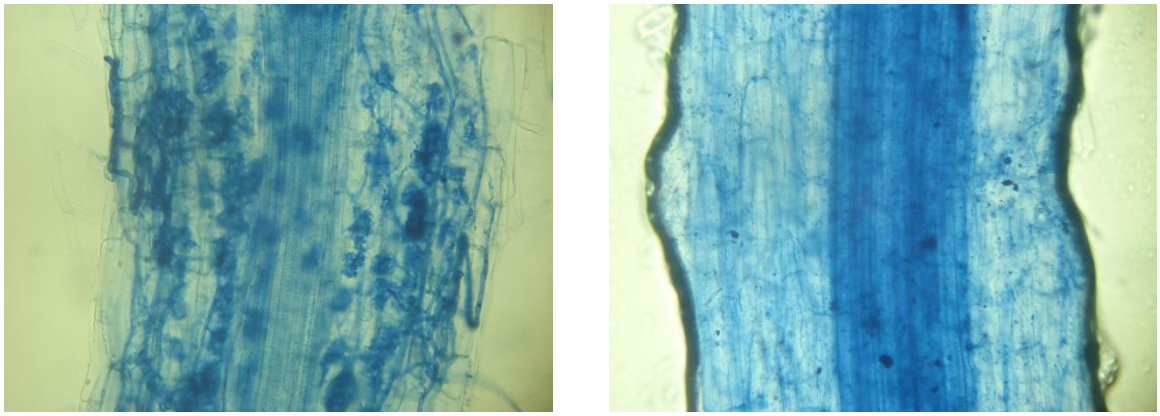

Figura 3: Raiz colonizada com presença de arbúsculos (esquerda) e raiz não colonizada (direita).

Para o experimento do cobre, a média da porcentagem de colonização variou de 98 %, na **dose 0**, até 48 %, na **dose 3** (*gráfico 18*).

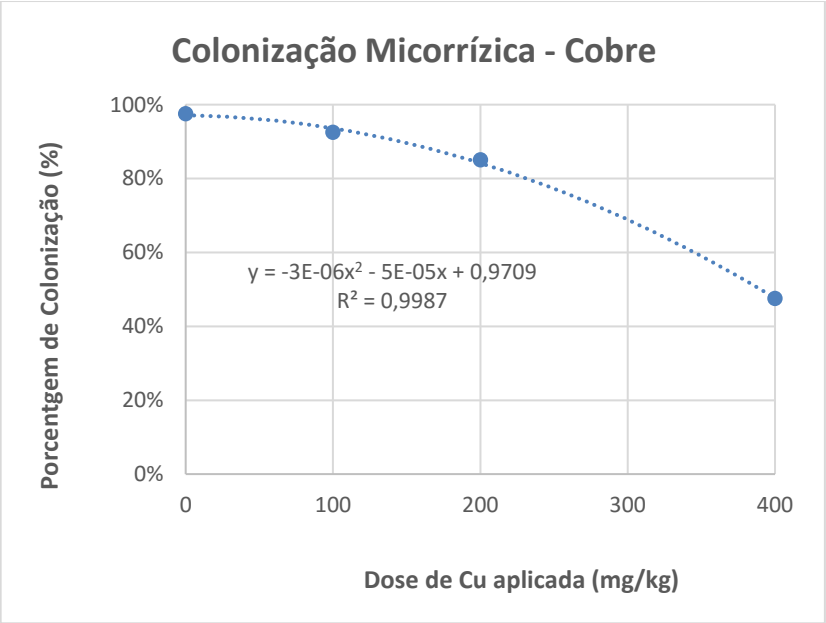

Gráfico 5: Porcentagem de colonização micorrízica em função da dose de cobre aplicada

Para o experimento do zinco, a média da porcentagem de colonização variou de 100 %, na **dose 0**, até 0 %, nas **doses 2 e 3** (*gráfico 19*).

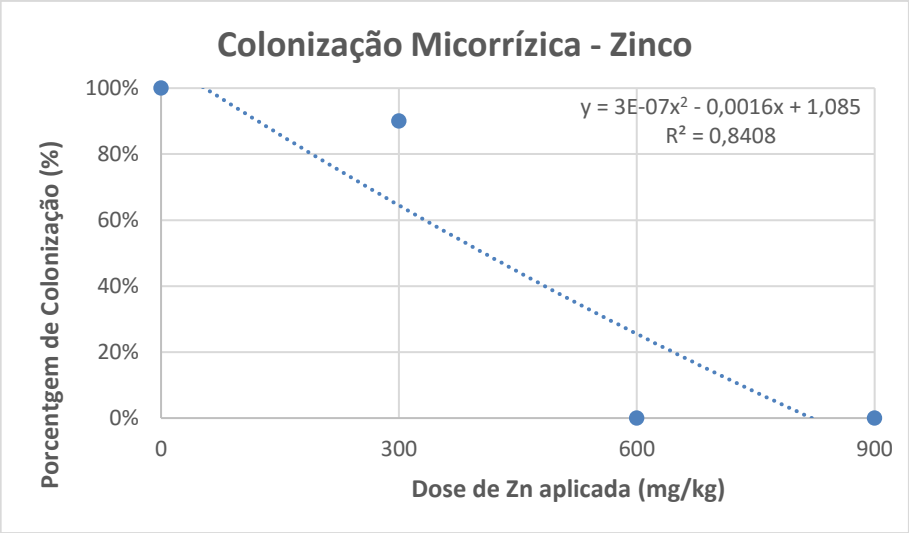

Gráfico 6: Porcentagem de colonização micorrízica em função da dose de zinco aplicada

O efeito prejudicial do excesso de metais pesados na colonização micorrízica também foi observado por Vidal e colaboradores (1996) em estudo que demonstrou a redução da colonização de raízes de milho por *Glomus mossae*, devido às altas concentrações de Zn, Cd e Cu. Nesse trabalho observou-se também a inibição de arbúsculos por Zn, mas não por Cd e Cu.

No presente trabalho, também se verificou que o aumento das doses de zinco teve maior impacto que o aumento das doses de cobre na colonização micorrízica. Entretanto, para ambos os experimentos, a **dose 1** de contaminação obteve percentuais de colonização próximos aos dos tratamentos não contaminados (93%, para o cobre; e 90%, para o zinco).

5.2. Parâmetros biométricos das plantas

Foram avaliados os seguintes parâmetros biométricos: Altura, diâmetro do caule, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz.

De maneira geral, todos os parâmetros biométricos analisados apresentaram influência estatisticamente significativa das variáveis “Dose” e “Inoculação de FMA”, com exceção da altura das plantas em solo contaminado com zinco, em que a inoculação dos fungos não acarretou em diferença significativa.

Sendo assim, o comportamento geral observado para essas respostas foi de diminuição com o aumento da dose de contaminante aplicado, e de maiores valores para os tratamentos com inoculação de FMA. O detalhamento de cada resposta é apresentado a seguir. Os resultados de todas as repetições para os parâmetros biométricos das plantas podem ser visualizados no *apêndice C* dessa dissertação.

5.2.1. Altura

No experimento do cobre, a variável “Dose” e a variável “Inoculação de FMA” tiveram influência significativa na altura das plantas, enquanto a interação das duas variáveis não apresentou influência significativa.

A altura das plantas decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado, e as plantas inoculadas com FMA apresentaram maior crescimento que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 6* e na *figura 4.*

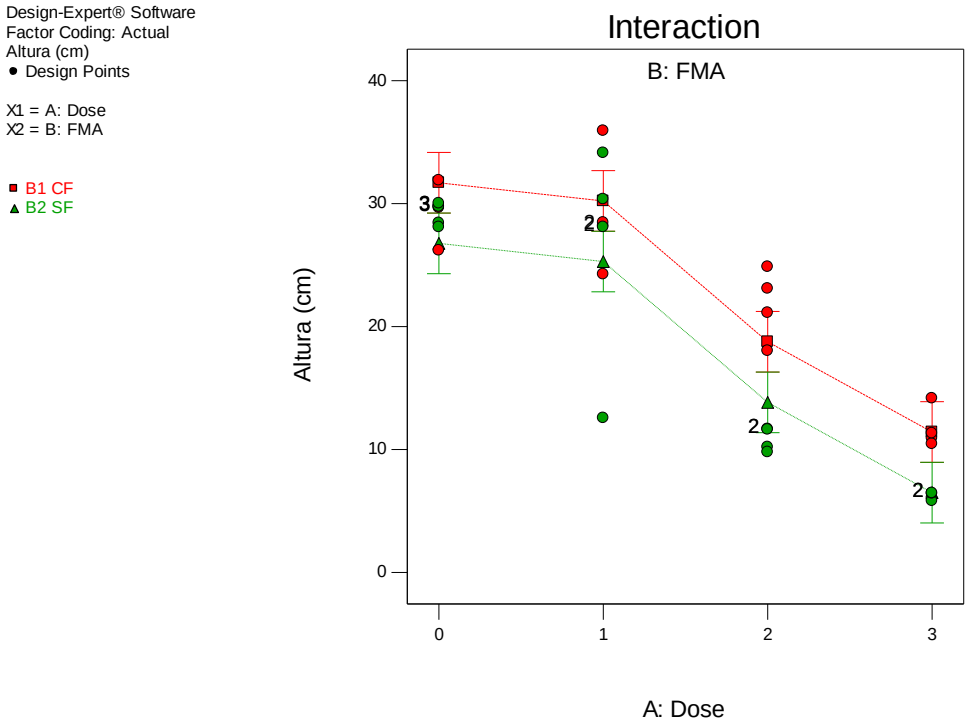

Gráfico 7: Influência das variáveis analisadas na altura das plantas – Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

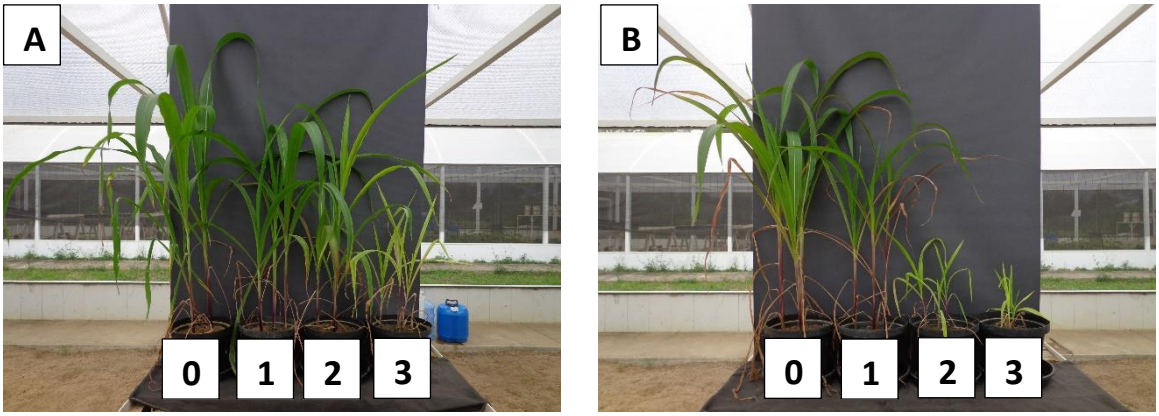

Figura 4: Comparação entre as plantas inoculadas e não inoculadas com FMA. A – Plantas inoculadas; B – Plantas não inoculadas. 0 – Sem contaminação; 1 – 100 mg/kgCU; 2 – 200 mg/kgCu; 3 – 400 mg/kgCu

No experimento do zinco, apenas a variável "Dose" teve influência significativa na altura das plantas.

A altura das plantas decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado, e as plantas inoculadas com FMA não apresentaram diferenças de crescimento significativas com relação as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 7* e na *figura 5*.

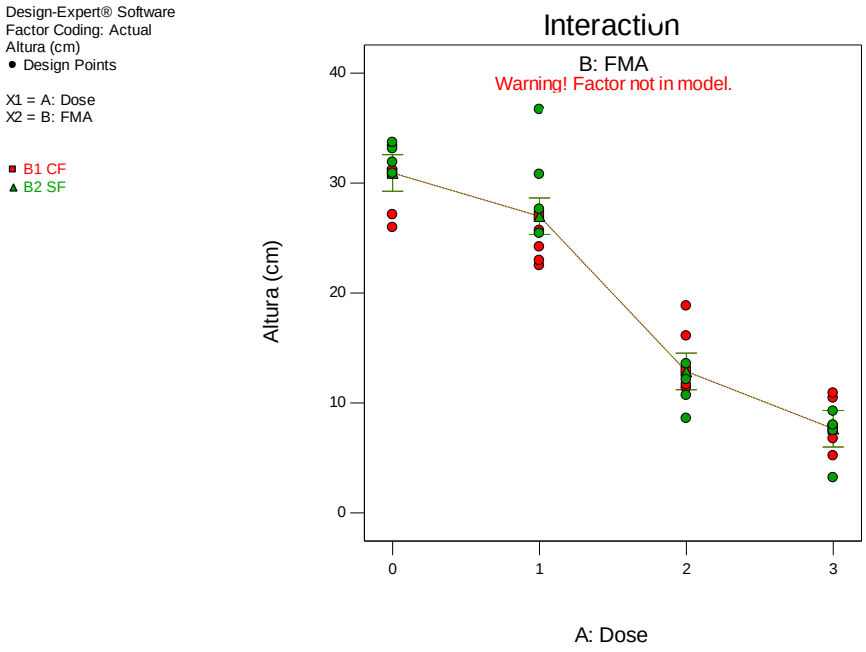

Gráfico 8: Influência das variáveis analisadas na altura das plantas – Experimento do zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

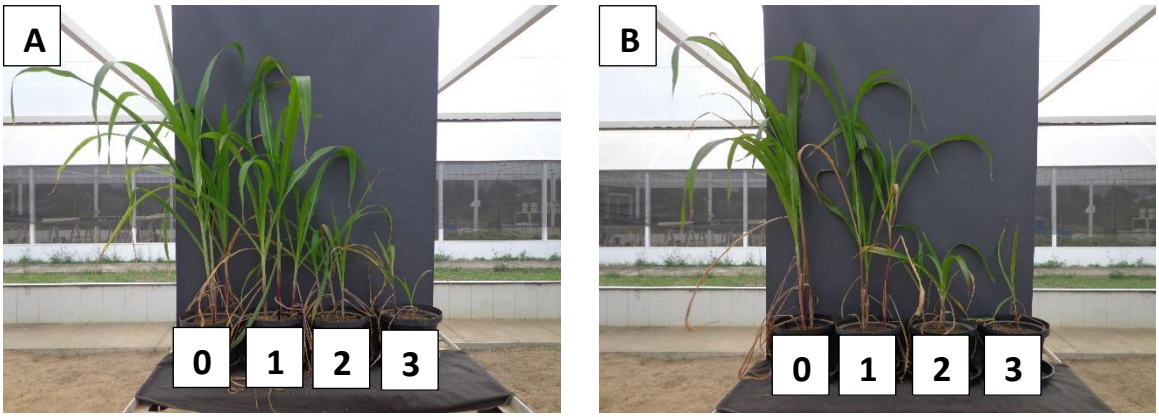

Figura 5: Comparação entre as plantas inoculadas e não inoculadas com FMA. A – Plantas inoculadas; B – Plantas não inoculadas. 0 – Sem contaminação; 1 – 300 mg/kgZn; 2 – 600 mg/kgZn; 3 – 900 mg/kgZn

Embora no experimento do zinco a altura não tenha apresentado diferença estatisticamente significativa, entre os tratamentos com e sem inoculação de FMA, outros parâmetros biométricos como o diâmetro e o número de folhas foram maiores para as plantas inoculadas, bem como a biomassa dessas plantas.

Em estudo sobre os benefícios da associação de *Rhizophagus clarus* (antigamente denominado *Glomus clarum*) e adubação fosfatada em cultivares de milho, SCHUCH (2013) concluiu que o FMA se mostrou eficiente no aumento da altura e matéria seca da parte aérea de planta em doses de fósforo que estimulam a colonização micorrízica.

5.2.2. Diâmetro do caule

No experimento do cobre, a variável “Dose”, a variável “Inoculação de FMA” e a interação das duas variáveis tiveram influência significativa no diâmetro do caule das plantas.

A diâmetro do caule decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado, e as plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 8.*

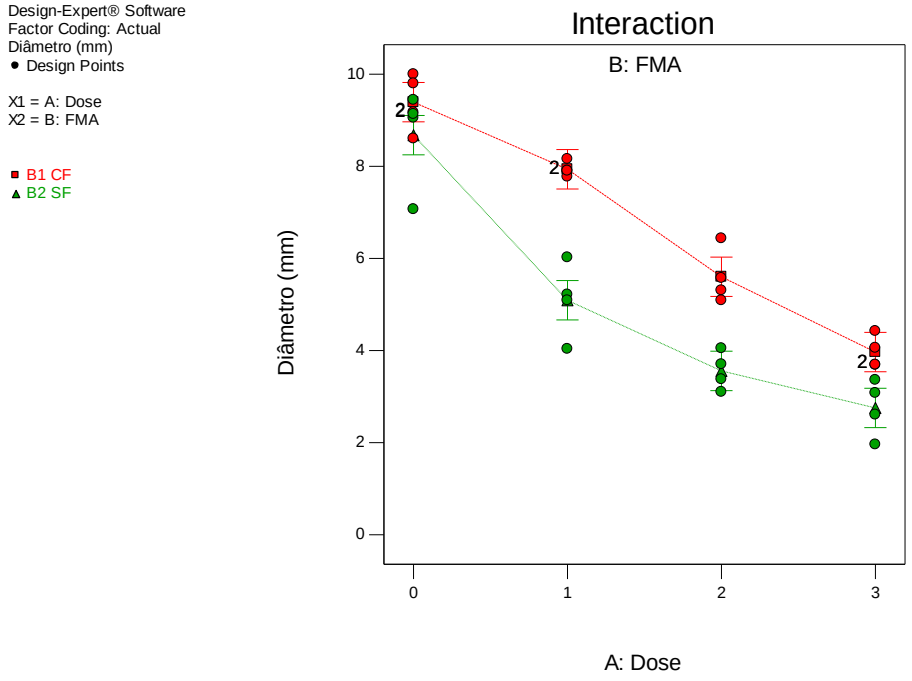

Gráfico 9: Influência das variáveis analisadas no diâmetro do caule das plantas – Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

No experimento do zinco, a variável “Dose” e a variável “Inoculação de FMA” tiveram influência significativa no diâmetro do caule das plantas, enquanto a interação das duas variáveis não apresentou influência significativa.

A diâmetro do caule decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado, e as plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 9*.

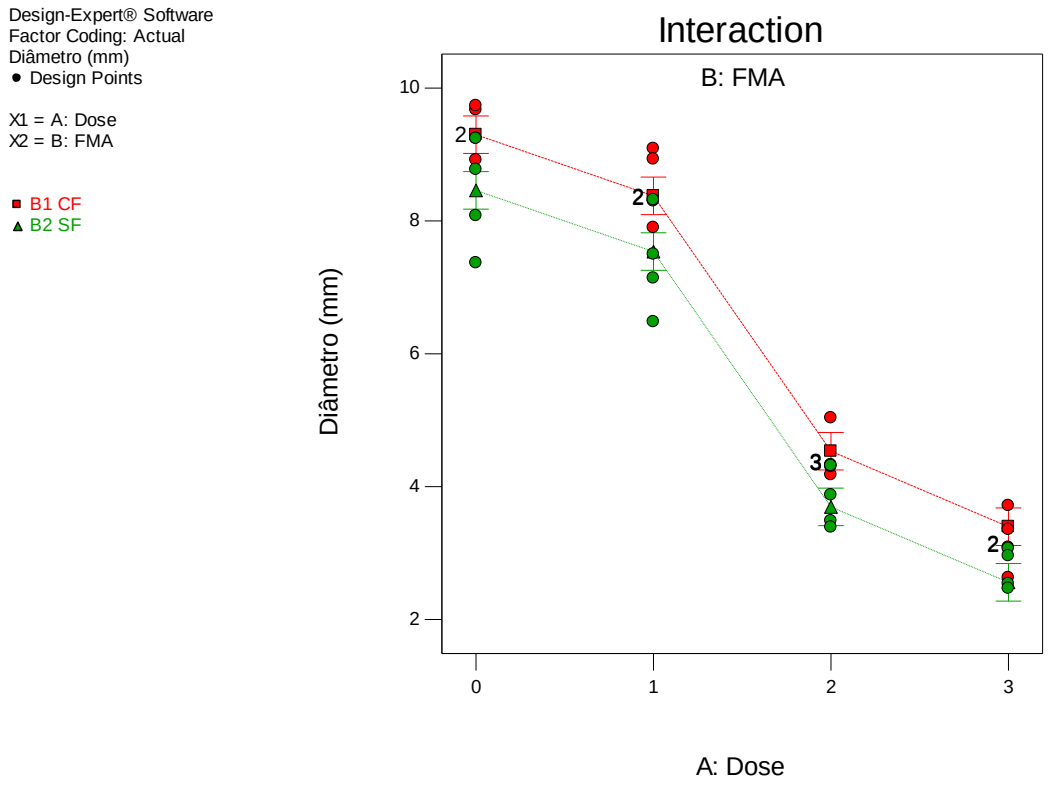

Gráfico 10: Influência das variáveis analisadas no diâmetro do caule das plantas – Experimento do zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

5.2.3. Massa seca da parte área

No experimento do cobre, a variável “Dose”, a variável “Inoculação de FMA” e a interação das duas variáveis tiveram influência significativa na massa seca da parte aérea das plantas.

A massa seca da parte aérea das plantas decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado, e o maior valor médio foi observado para a **dose 0** com FMA (15,42 g/vaso). Dentre os tratamentos com contaminação (doses 1, 2 e 3), o maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (12,80 g/vaso).

As plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 10*.

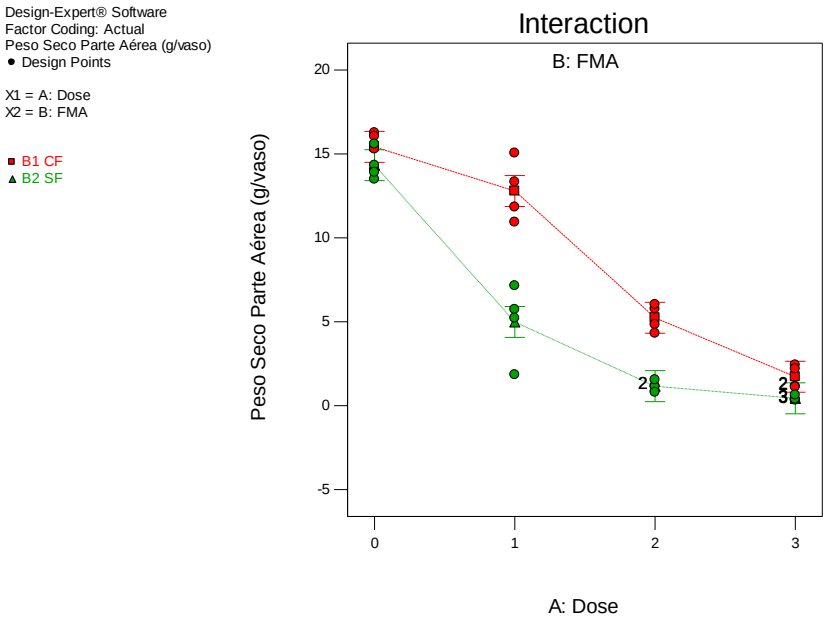

Gráfico 11: Influência das variáveis analisadas na massa seca da parte aérea das plantas – Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

No experimento do zinco, a variável “Dose” e a variável “Inoculação de FMA” tiveram influência significativa na massa seca da parte aérea das plantas, enquanto a interação das duas variáveis não apresentou influência significativa.

A massa seca da parte aérea das plantas decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado, e o maior valor médio foi observado para a **dose 0** com FMA (15,80 g/vaso). Dentre os tratamentos com contaminação (doses 1, 2 e 3), o maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (10,00 g/vaso).

As plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 11*.

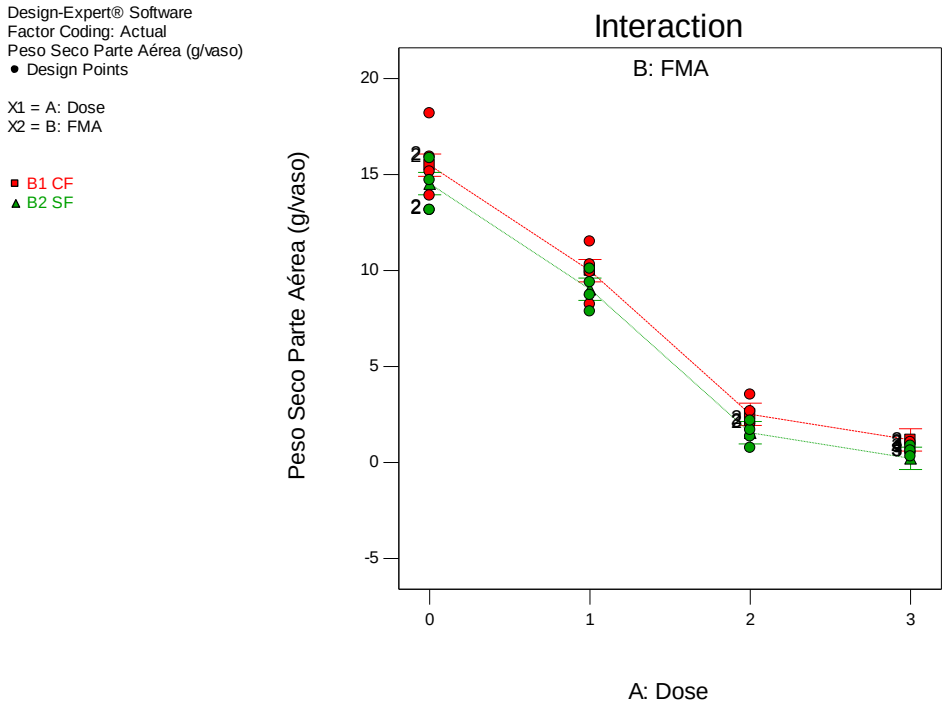

Gráfico 12: Influência das variáveis analisadas na massa seca da parte aérea das plantas – Experimento do zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

Os maiores valores de massa seca observados para as plantas inoculadas provavelmente estão relacionados ao aumento da absorção de nutrientes, ocasionado pela maior superfície de contato das hifas, e a efeitos fitoprotetores que os fungos micorrízicos oferecem às plantas (BERBARA *et al*, 2006; GADD, 2007). Esses fatores propiciam um melhor desenvolvimento das plantas, e o aumento de altura e diâmetro do caule destas refletirá em maior biomassa.

Moser (2013) demonstrou que o aumento nos teores de glomalina, produzida pelos FMA, pode diminuir a disponibilidade do Cu, reduzindo a toxidade desse metal para as plantas. Dessa forma, a remediação do solo é auxiliada por meio da fitoestabilização dos contaminantes, ou seja, apesar de não serem extraídos do solo, os metais permanecem no mesmo em formas químicas mais estáveis.

5.2.4. Massa seca da raiz

No experimento do cobre, a variável “Dose”, a variável “Inoculação de FMA” e a interação das duas variáveis tiveram influência significativa na massa seca da raiz das plantas.

Nas plantas sem inoculação de FMA, a massa seca da raiz das plantas decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado. No caso das plantas inoculadas com FMA, observou-se um aumento desta variável da **dose 0** para a **dose 1**, e um decréscimo da **dose 1** até a **dose 3**.O maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (5,87 g/vaso).

Com exceção da **dose 0**, as plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores de massa seca na raiz que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 12*.

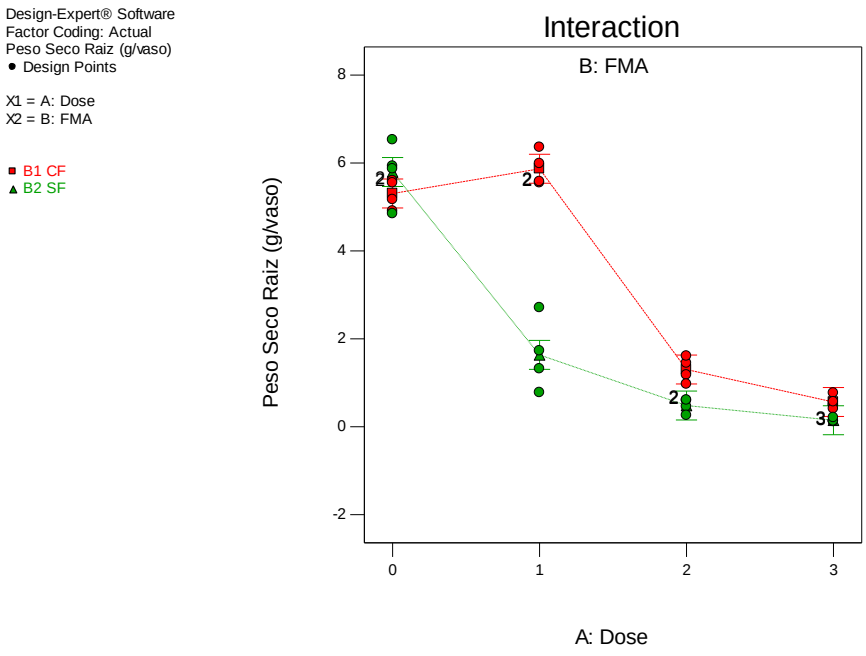

Gráfico 13: Influência das variáveis analisadas na massa seca da raiz das plantas – Experimento do Cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

No experimento do zinco, a variável “Dose” e a variável “Inoculação de FMA” tiveram influência significativa na massa seca da raiz das plantas, enquanto a interação das duas variáveis não apresentou influência significativa.

A massa seca da parte aérea das plantas decresceu com o aumento da dose de contaminante aplicado, e o maior valor médio foi observado para a **dose 0** com FMA (6,61 g/vaso). Dentre os tratamentos com contaminação (doses 1, 2 e 3), o maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (5,87 g/vaso).

As plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 13*.

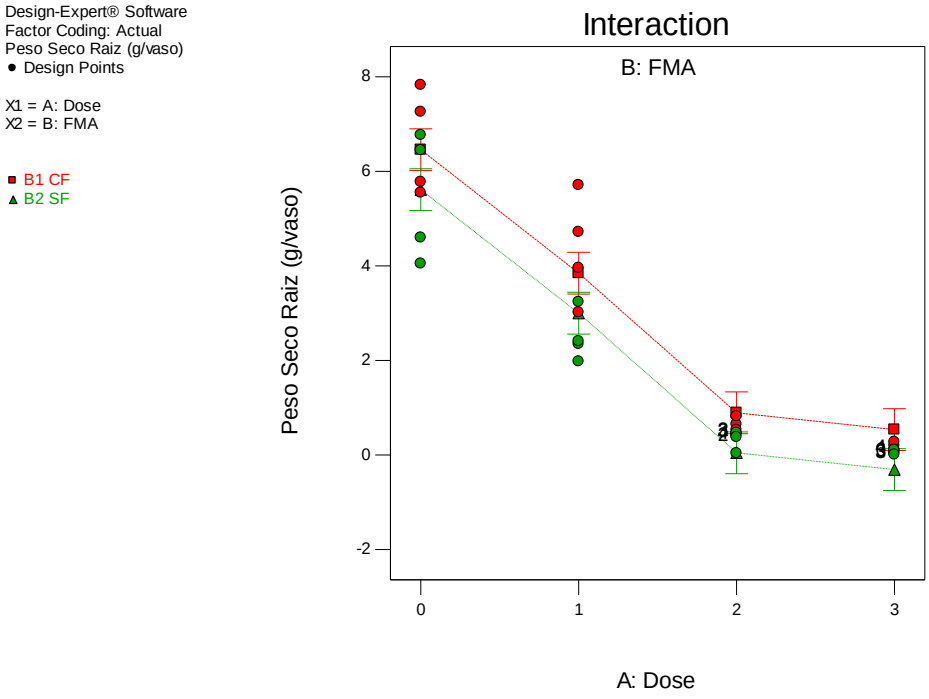

Gráfico 14: Influência das variáveis analisadas na massa seca da raiz das plantas – Experimento do Zinco. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

5.3. Conteúdo de contaminante na parte aérea

No experimento do cobre, a variável “Dose” e a variável “Inoculação de FMA” tiveram influência significativa no conteúdo de cobre na parte aérea das plantas, enquanto a interação das duas variáveis não se mostrou estatisticamente significante. Os resultados de todas as repetições para o conteúdo de contaminante na parte aérea das plantas podem ser visualizados no *apêndice D* dessa dissertação.

O conteúdo de cobre na parte aérea das plantas aumentou com a elevação da **dose 0** para **dose 1**, decresceu com o aumento do contaminante da **dose 1** para **dose 2**, e voltou a aumentar da **dose 2** para **dose 3**. O maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (0,14 mgCu/vaso).

Tavares e colaboradores (2013), em estudo de avaliação de espécies para fitorremediação de solos contaminados por área industrial, observaram conteúdo de 0,0584 mgCu/vaso na parte aérea do milho, para vasos de 1,5 kg de solo, com concentração inicial de 107,6ppm de Cu (pseudo-total).

Em trabalho de avaliação da utilização do pó de forno elétrico (resíduo da indústria siderúrgica) como fonte de micronutrientes e contaminantes para o milho, Accioly e colaboradores (2000) obtiveram conteúdos que variaram de 0,03 a 0,14 mgCu/vaso na parte aérea das plantas, para vasos contendo aproximadamente 3,7 kg de solo, com aplicações via fontes puras (1,3 ppm de Cu) e via diferentes proporções de solo/pó de forno elétrico, com concentração no resíduo de 1710 ppm de Cu.

As plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores de conteúdo de cobre na parte aérea que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 14*.

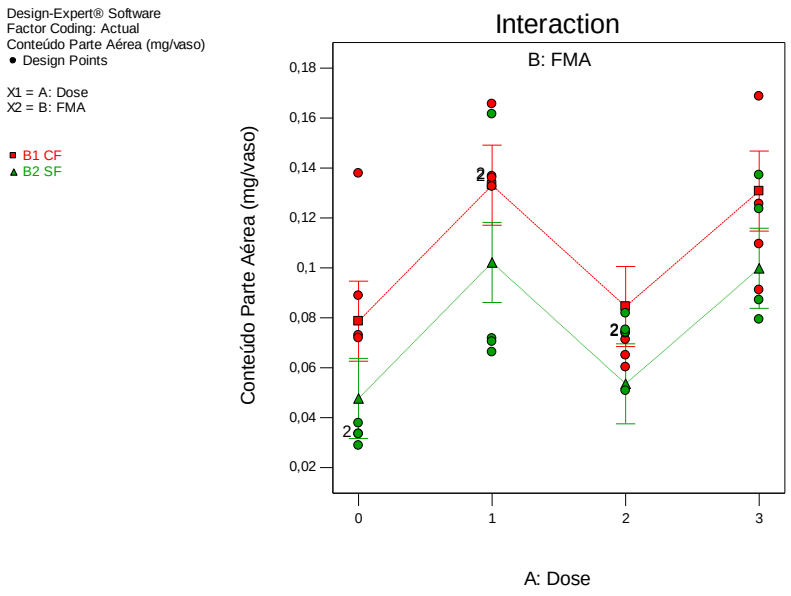

Gráfico 15: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de cobre na parte aérea das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

No experimento do zinco, a variável “Dose” e a variável “Inoculação de FMA” tiveram influência significativa na massa seca da raiz das plantas, enquanto a interação das duas variáveis não apresentou influência significativa.

O conteúdo de zinco na parte aérea das plantas aumentou com a elevação da **dose 0** para **dose 1**, e decresceu com o aumento do contaminante da **dose 1** para **dose 2** e da **dose 2** para **dose 3**. O maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (33,96 mgZn/vaso).

Tavares *et al* (2013) observaram conteúdo de 0,1676mgZn/vaso na parte aérea do milho, para vasos de 1,5 kg de solo, com concentração inicial de 73,8 ppm de Zn (pseudo-total).

Accioly *et al* (2000) obtiveram conteúdos que variaram de 0,25 a 1,82 mgZn/vaso na parte aérea das plantas, para vasos contendo aproximadamente 3,7 kg de solo, com aplicações via fontes puras (4 ppm de Zn) e via diferentes proporções de solo/pó de forno elétrico, com concentração no resíduo de 144785 ppm de Zn.

As plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores de conteúdo de zinco na parte aérea que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 15*.

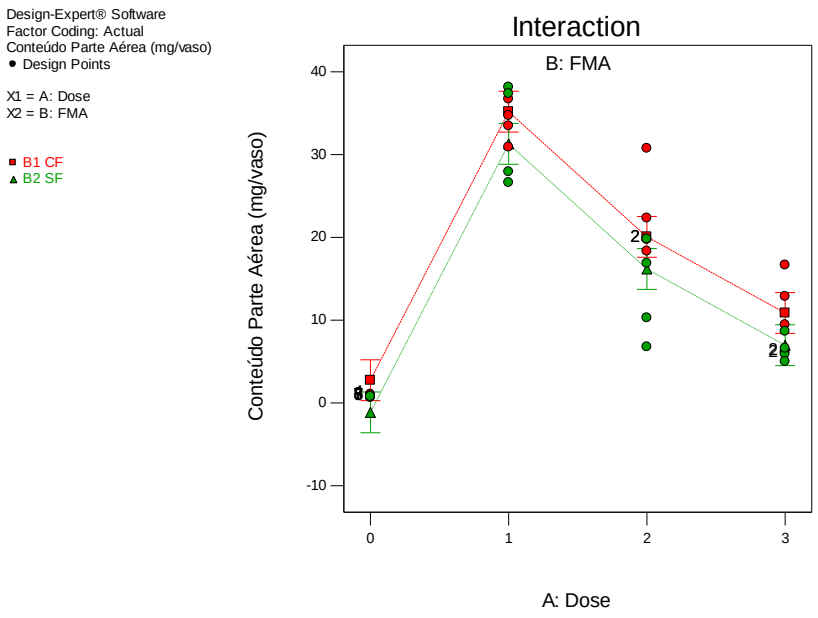

Gráfico 16: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de zinco na parte aérea das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

O maior conteúdo dos metais analisados, nas plantas inoculadas, está relacionado à maior produção de massa seca, causando uma distribuição dos contaminantes no tecido das plantas.

5.4. Conteúdo de contaminante na raiz

No experimento do cobre, a variável “Dose”, a variável “Inoculação de FMA” e a interação entre as duas variáveis tiveram influência significativa no conteúdo de cobre na raiz das plantas. Os resultados de todas as repetições para o conteúdo de contaminante na raiz das plantas podem ser visualizados no *apêndice D* dessa dissertação.

O conteúdo de cobre na raiz das plantas aumentou com a elevação da **dose 0** para **dose 1,**e decresceu com o aumento do contaminante da **dose 1** para **dose 2** e da **dose 2** para **dose 3**. O maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (1,80mgCu/vaso).

As plantas inoculadas com FMA apresentaram maiores valores de conteúdo de cobre na raiz que as plantas sem inoculação, para todas as doses de contaminação, como pode ser observado no *gráfico 16*.

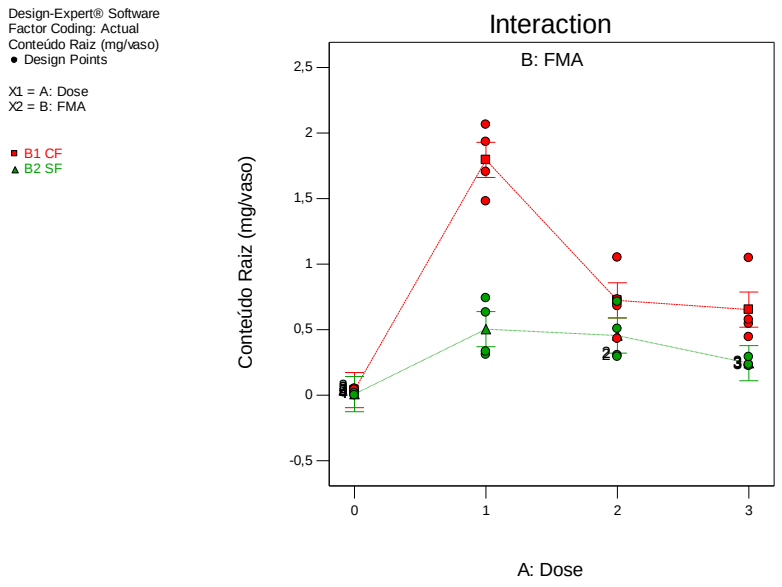

Gráfico 17: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de cobre na raiz das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

O acúmulo de cobre nas raízes, principalmente na **dose 1** inoculada com FMA, pode estar relacionado com a maior massa seca de raiz observada nesse tratamento e com a capacidade dos FMA em imobilizar alguns metais. De acordo com Gadd (2007), a biomassa fúngica pode fazê-lo das seguintes formas: biossorção na biomassa (paredes celulares, pigmentos e polissacarídeos extracelulares); acumulação intracelular e precipitação de compostos metálicos em torno das hifas.

Em estudo sobre a capacidade de retenção de metais pesados em tecidos de FMAs crescidos *in vitro*, Cabral (2008) concluiu que o tecido fúngico de *Rhizophagus clarus* (antigamente denominado *Glomus clarum*) apresentou maior capacidade de retenção para Cu, Cd e Pb.

No experimento do zinco, apenas a variável “Dose” teve influência significativa no conteúdo desse contaminante na raiz das plantas.

O conteúdo de zinco na raiz das plantas aumentou com a elevação da **dose 0** para **dose 1**, e decresceu com o aumento do contaminante da **dose 1** para **dose 2** e da **dose 2** para **dose 3**. O maior valor médio foi observado para a **dose 1** com FMA (1,36 mgZn/vaso).

Não houve diferenças estatisticamente significativas entre o conteúdo de zinco na raiz das plantas inoculadas e as não inoculadas com FMA, como pode ser observado no *gráfico 17*.

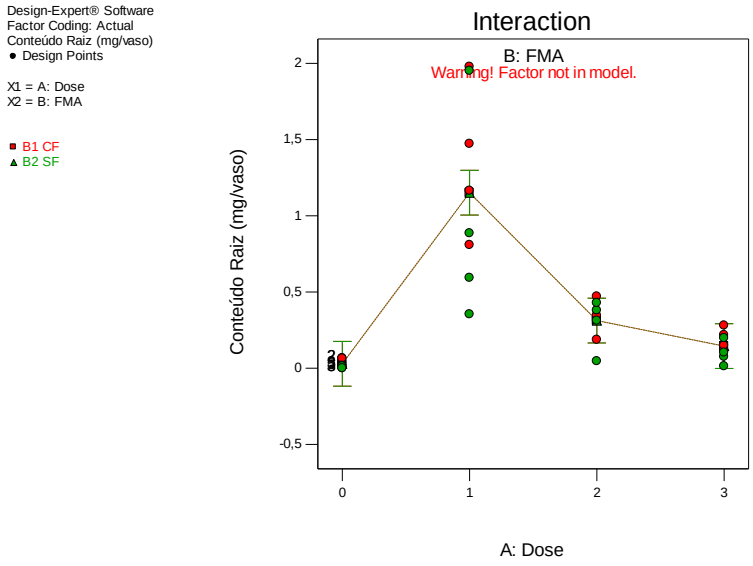

Gráfico 18: Influência das variáveis analisadas no conteúdo de zinco na raiz das plantas. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

Embora o conteúdo de zinco não tenha revelado diferença estatisticamente significativa, observaram-se médias ligeiramente maiores desse elemento nas raízes das plantas inoculadas com FMA, o que também pode estar relacionado a uma maior massa seca da planta e aos mecanismos de imobilização de metais dos fungos. Entretanto, tais mecanismos parecem ocorrer em magnitude menor que para os compostos de cobre.

5.5. Aumento do pH do solo

A influência da dose e da inoculação de FMA no aumento do pH do solo não foram significativas, em ambos os experimentos. Entretanto, constatou-se que a fitorremediação acarretou em um aumento do pH no solo, para todos os tratamentos (*gráficos 18 e 19*). Os resultados de todas as repetições podem ser visualizados no *apêndice E* dessa dissertação.

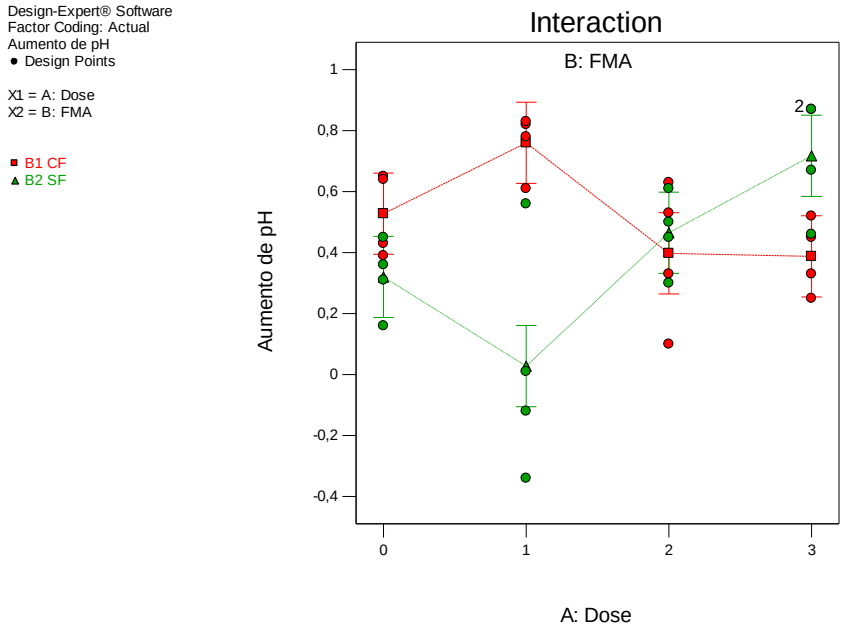

Gráfico 19: Relação entres as variáveis analisadas e o aumento do pH do solo. Experimento do cobre. Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

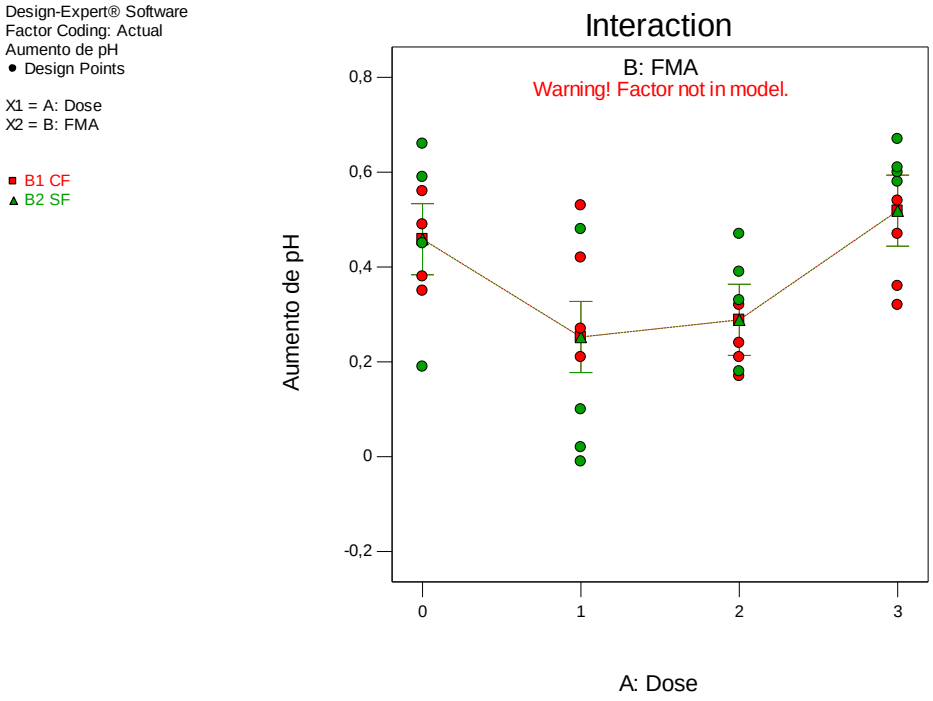

Gráfico 20: Relação entres as variáveis analisadas e o aumento do pH do solo. Experimento do zinco Legenda: CF – Com inoculação de FMA; SF – Sem inoculação de FMA

Esse efeito é considerado importante, pois a disponibilidade dos metais tende a diminuir com o aumento do pH. Dessa forma, a remediação pode acontecer também por meio da fitoestabilização, através da precipitação ou complexação dos metais.

Com o aumento do pH, os grupos funcionais carboxila, fenólico, alcoóis e carbonila da matéria orgânica dissociam-se, aumentando a capacidade de estabelecerem ligações com os metais (PERES, 2014).

5.6. Avaliação da redução da contaminação do solo

Em ambos os experimentos, apenas a dose aplicada influenciou na redução do contaminante do solo, tanto para a concentração pseudo-total quanto para a fração biodisponível. Os valores obtidos para estas respostas são apresentados a seguir. Os resultados de todas as repetições podem ser visualizados no *apêndice F* dessa dissertação.

Tabela 4: Percentuais de redução da concentração biodisponível de contaminante do solo

Remoção (%)		
Biodisponível	**Cu**	**Zn**
Dose 1	1,8 %	27,2 %
Dose 2	-6,8 %	39,2 %
Dose 3	2,4%	49,4%

Tabela 5: Percentuais de redução da concentração pseudo-total de contaminante do solo

Remoção (%)		
Pseudo-total	**Cu**	**Zn**
Dose 1	32,6%	18,6 %
Dose 2	22,3 %	36,8 %
Dose 3	26,7 %	48,4 %

No experimento do cobre, observou-se que o teor pseudo-total apresentou maiores reduções, enquanto o teor biodisponível apresentou redução pequena ou até foi elevado, o que pode estar relacionado à disponibilização de cobre no solo ao longo do período do experimento e à baixa mobilidade desse elemento no solo. O maior percentual médio de remoção foi observado na **dose 1** (32,6%), para o teor pseudo-total.

No experimento do zinco, a remoção do contaminante no solo cresceu com o aumento da dose aplicada, tanto para a concentração pseudo-total quanto para a fração biodisponível, apresentando valores maiores que a redução de cobre no solo. Os maiores valores médios de remoção foram observados para a **dose 3**, tanto para o teor biodisponível quanto para o pseudo-total (49,4% e 48,4%, respectivamente).

Analisando a correlação entre características de latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco, Nascimento e Fontes (2004) concluíram que os solos apresentaram maior energia de ligação dos sítios de troca e maior capacidade de adsorção máxima para Cu relativamente ao Zn. Em estudo sobre mobilidade de metais pesados em solo com descarte de lodo industrial, Gaivizzo (2001) concluiu que o Zn foi o metal com maior mobilidade, enquanto o cobre foi um dos que apresentou menor mobilidade dentre os analisados no trabalho.

Assim, a diferença de remoção no solo, observada entre os metais utilizados no presente estudo, parece estar relacionada à mobilidade dos mesmos no solo. Apesar de não ter sido medida a concentração de metais na água de lixiviação, supõe-

se que o zinco, por ser mais móvel, é mais vulnerável à lixiviação pela água de irrigação, muito embora o cobre também possa ter sofrido este processo, provavelmente em menor magnitude.

5.7. Análise estatística dos modelos

A maioria das respostas obteve modelos significativos, para um nível de confiança de 95%, de acordo com o programa de análise estatística utilizado, permitindo a avaliação da influência das variáveis analisadas.

A tabela abaixo traz um resumo dos principais resultados estatísticos para as respostas avaliadas. As análises de variância podem ser visualizadas nos *apêndices A e B* dessa dissertação.

Tabela 6: Significância estatística dos modelos gerados através do programa Design Expert 10. Valores de p-value menores que 0,05 indicam que o modelo é estatisticamente significante.

Resposta Analisada	Cobre		Zinco	
	p-value (modelo)	R^2	p-value (modelo)	R^2
Colonização Micorrízica	-	0,998	-	0,841
Altura	0,0001	0,835	0,0001	0,907
Diâmetro do caule	0,0001	0,961	0,0001	0,970
Massa seca da parte aérea	0,0001	0,970	0,0001	0,976
Massa seca da raiz	0,0001	0,977	0,0001	0,925
Conteúdo de contaminante na parte aérea	0,0002	0,580	0,0001	0,908
Conteúdo de contaminante na raiz	0,0001	0,928	0,0001	0,723
Aumento do pH do solo	0,0004	0,686	0,0053	0,393
Remoção de contaminante do solo (Biodisponível)	0,0004	0,5156	0,0001	0,9470

Remoção de contaminante do solo (Pseudo-total)	0,0001	0,8445	0,0001	0,8816

Embora os modelos tenham sido considerados significativos (p-value <0,05), alguns apresentaram baixos valores de coeficiente de determinação (R^2).

De maneira geral, os parâmetros biométricos das plantas (Altura, Diâmetro do caule, Massa seca da parte aérea e Massa seca da raiz), foram as respostas que apresentaram os maiores valores de R^2, enquanto que o aumento do pH do solo apresentou os menores valores do coeficiente, assim como o conteúdo de contaminante na parte aérea e a remoção de contaminante biodisponível do solo (para o experimento do cobre).

Dessa forma, conclui-se que as variáveis analisadas apresentaram boa correlação com os parâmetros biométricos e o conteúdo de contaminante nas plantas, enquanto para os parâmetros do solo, de maneira geral, a correlação for mais baixa. Tal resultado indica que outras variáveis devem ser consideradas para o melhor entendimento das mudanças ocorridas do solo, como por exemplo a lixiviação dos metais nessa matriz.

6. Conclusões

A colonização micorrízica de *Rhizophagus clarus* em milho *Zea mays* sofreu influência da dose de contaminante aplicado, decrescendo com o aumento desta. O zinco apresentou efeitos mais severos que cobre, no que diz respeito à colonização das raízes. Para ambos os experimentos, a **dose 1** de contaminação obteve percentuais de colonização próximos aos dos tratamentos não contaminados (93%, para o cobre; e 90%, para o zinco).

Com relação à fitoextração, o cobre acumulou-se em maior quantidade na raiz das plantas, enquanto o zinco acumulou-se majoritariamente na parte aérea. Conclui-se que *Rhizophagus clarus* apresenta boa capacidade de retenção/imobilização de cobre em seus tecidos.

Os conteúdos de contaminante na parte aérea e na raiz foram sempre maiores nas plantas inoculadas com FMA, principalmente devido à maior biomassa destas.

Embora a dose de contaminante aplicado e a inoculação de FMA não tenham influenciado na alteração do pH do solo, verificou-se que todos os tratamentos causaram um aumento deste, indicando o favorecimento do processo de fitoestabilização.

Através das análises dos contaminantes no solo, verificou-se que o zinco apresentou maiores percentuais de remoção, o que pode estar relacionado também à lixiviação do metal pela água de irrigação. Dessa forma, o zinco apresentou maior potencial para a fitoextração, e o cobre para a fitoextração/fitoestabilização.

Os melhores resultados, para ambos os experimentos, foram obtidos para os tratamentos inoculados com FMA na **dose 1** de contaminação. Portanto, conclui-se que a técnica utilizada tem potencial de aplicação apenas para solos contaminados em baixa magnitude e de maneira difusa, como acontece em áreas afetadas por atividades agrícolas, principalmente pela utilização indiscriminada de pesticidas e fertilizantes químicos. A técnica utilizada no presente trabalho não apresenta potencial de utilização em áreas severamente contaminadas, por atividades industriais ou de mineração, por exemplo.

Com intuito de aumentar a eficiência da fitorremediação, novos experimentos podem ser realizados considerando a utilização de consórcios de plantas e microrganismos, visando a um aumento da sinergia do processo, por meio do estabelecimento de comunidades potencialmente remediadoras de áreas contaminadas. Ademais, novos estudos sobre o comportamento dos metais nas áreas contaminadas, principalmente sobre processos de lixiviação, são igualmente importantes para o desenvolvimento dessa técnica de remediação.

7. Referências

ACCIOLY, A. M.; NETO, A. E. F.; MUNIZ, J. A.; FAQUIN, V. & GUEDES, G. A. A. **Pó de forno elétrico de siderurgia como fonte de micronutrientes e de contaminantes para plantas de milho**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v.35, n.7, p.1483-1491, jul. 2000.

ALEXANDER, M. **Biodegradation and bioremediation**. San Diego: Academic Press, Inc. 1994

ANDERSON, T. A.; KRUGER, E. L.; COATS, J. R. **Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant**. Chemosphere, Vol. 28, No. g, pp. 1551-1557, 1994.

ANDRADE, P. P. **Elementos de ecologia e conservação**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2013. v.1, p. 103.

BARBOSA, J. Z.; CONSALTER, R.; VEZZANI, F. M.; MOTTA, A. C. V. **Bactérias e fungos benéficos na endosfera das plantas**. Revista Agrogeoambiental. Pouso Alegre, v. 7, n. 3, p. 99-116, set. 2015.

BARROS, J. F. C; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Évora: Universidade de Évora, 2014.

BERBARA, R. L.L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M.A.C. **Fungos Micorrízicos Arbusculares: Muito além da nutrição**. In: Fernandes, M. S. Nutrição Mineral de Plantas. 1ª ed. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006.

BIASIOLI, M.; BARBERIS, R.; AJMONE-MARSAN, F. **The influence of a large city on some soil properties and metals**. Science of the Total Environment 356, p. 154–164. 2006.

BONFANTE-FASOLO, P. **Anatomy and morphology of VA mycorrhizae**. In: POWELL, C. L.; BAGYARAJ, D. J. (Ed.) VA Mycorrhiza. CRC Press, Boca Raton, 1984. Cap.2, p.5-33.

BRADER, G.; COMPANT, S.; MITTER, B.; TROGNITZ, F.; SESSITSCH, A. **Metabolic potential of endophytic bacteria**. Current Opinion in Biotechnology, v. 27, p.30-37, jun. 2014.

BRASIL. **Áreas Contaminadas**. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/residuos-perigosos/areas-contaminadas> Acessado em Dez/2015.

BRASIL. **Atlas da energia elétrica no Brasil**. Agência Nacional de energia Elétrica. Disponível em: < http://www2.aneel.gov.br/arquivos/PDF/atlas3ed.pdf > Acessado em Set/2016.

BRASIL. **Biocombustíveis: 50 perguntas e respostas sobre este novo mercado**. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/matprima1_000g7pcetcc02wx5ok0wtedt32e6jis7.pdf> Acessado em Set/2016.

BRASIL. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 30 dez. 2009. p 81-84.

CABRAL, L. **Retenção de metais pesados em tecidos de fungos micorrízicos arbusculares *in vitro***. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

CLARINET - Contaminated Land Rehabilitation Network for Environmental Technologies. **A report from the Contaminated Land Rehabilitation Network for Environmental Technologies**. 2002.

COSTA, C. **O que já se sabe sobre o impacto da lama de Mariana?** BBC Brasil, São Paulo, 22 dez. 2015. Disponível em< http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2015/12/151201_dados_mariana_cc> Acessado em Set/2016.

COSTA, T. A.; PINTRO, J. C.; SILVA, E. S.; COSTA, S. M. G**. Influência da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares, da acidez do solo e de fontes de fósforo no crescimento do milho**. Acta Scientiarum Maringá, v. 24, n. 5, p. 1583-1590. 2002.

DE OLIVEIRA, A. **Comissão Interamericana denuncia Brasil à OEA por tragédia em Mariana**. El País, São Paulo, 7 jun. 2016. Disponível em: <http://brasil.elpais.com/brasil/2016/06/07/politica/1465319140_029773.html> Acessado em Set/2016.

DE OLIVEIRA, D. M. et al. **Fitorremediação: O estado da arte** — Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 49p. (Série Tecnologia Ambiental, 39). 2007.

DOD ETTC – U.S. Department of Defense Environmental Technology Transfer Committee. **Remediation technologies screening matrix and reference guide**. 2. ed. Washington, CC.: DOD, 1994. 461p.

DUFFUS, J.H. **Heavy metals - A mean ingless term?** Pure and Applied Chemistry. v. 74, n. 5, p. 793-807, 2002.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos,1997. 212p.

EPA – United States Environmental Protection Agency**. Indoor air pollution: an introduction for health professionals**. 1994. Disponível em: < https://www.epa.gov/indoor-air-quality-iaq/indoor-air-pollution-introduction-health-professionals-printable-version > Acessado em Dez/2015.

EUGRIS – European Groundwater and Contaminated Land Information System. **Contaminated land**. EUGRIS. Disponível em: <http://www.eugris.info/eugrismain.asp?r=&e=4&c=0&ca=Content_Digests&en=1>. Acessado em Dez/2015.

FELISBERTO, E. H**. Eficiência simbiótica de inoculantes a base de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de cebola (Allium cepa L.)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo). Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2013.

GADD, G. M. **Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation**. Mycological Research, 111, p. 3–49, 2007.

GAIVIZZO, L. H, B. **Fracionamento e mobilidade de metais pesados em solo com descarte de lodo industrial**. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

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

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

GRANATO, M. **Utilização Do Aguapé No Tratamento de Efluentes com Cianetos**. Rio De Janeiro: CETEM /CNPq, Série Tecnologia Ambiental v.5 p 1. 1995.

HAMZEH, A. H.; AFTABI, A.; MIRZAEE, M. **Assessing geochemical influence of traffic and other vehicle- related activities on heavy metal contamination in urban soils of Kermancity, using a GIS-based approach**. EnvironGeochem Health, 33, p. 577–594. 2011.

HOFFMANN, L. V.; LUCENA, V. S. **Para Entender Micorrizas Arbusculares**. Campina Grande: EMBRAPA ALGODÃO, 2006.

INVAM. ***Rhizophagus clarus***. International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Disponível em <http://invam.wvu.edu/the-fungi/classification/glomaceae/rhizophagus/clarum> Acessado em Jan/2016.

KABATA-PENDIAS A. **Trace Elements in Soils and Plants**. 4ª ed. Boca Raton, FL, USA. CRC Press; 2010.

LASAT, M.M. **Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues**. Journal of Hazardous Substance Research, v.2, 25 p., 2000.

LIMA, V. F., MERÇON, F. L. **Metais Pesados no Ensino de Química**. Química Nova na Escola. v. 33, n° 4, p. 199-205. 2011.

LIU, H.; PROBST, A.; LIAO, B. **Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzhou lead/zinc mine spill (Hunan, China)**. Science of the Total Environment, 339, p. 153–166. 2005.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2ª ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.

MANTOVANI, A. **Composição química de solos contaminados por cobre: formas, sorção e efeito no desenvolvimento de espécies vegetais**. 2009. Tese (Doutorado em Ciência do Solo). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de. **Ecologia Microbiana**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. 488p

MINAS GERAIS. **Inventário de áreas contaminadas de Minas Gerais 2014**. Belo Horizonte: FEAM, 2014

MORAES, S. L.; TEIXEIRA C. E.; MAXIMIANO A. M. S. **Guia de elaboração de planos de intervenção para o Gerenciamento de Áreas Contaminadas**. 1ª ed. rev. São Paulo: IPT - Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo: BNDES, 2014.

MOSER, G. R. Z. ***Rhizophagus clarus* e fósforo em crotalaria juncea em solo com altos teores de cobre**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

NASCIMENTO, C. W. A; FONTES, R. L. F. **Correlação entre características de latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 28, p.965-971, 2004.

NOVAIS, C. B.; BORGES, W. L.; JESUS, E. C.; JÚNIOR, O.J. S.; SIQUEIRA, J. O. **Inter and intra-specific functional variability of tropical arbuscular mycorrhizal fungi isolates colonizing corn plants**. Applied Soil Ecology v. 76, p. 78–86, 2013.

ONU. 2015, **Ano Internacional dos Solos**. Disponível em <http://nacoesunidas.org/video-2015-ano-internacional-dos-solos/> Acessado em Nov/2015.

ONU. **Solos hospedam um quarto da biodiversidade do planeta, lembra ONU, em Semana Mundial**. Disponível em <http://nacoesunidas.org/solos-hospedam-mais-de-um-quarto-da-biodiversidade-do-planeta-lembra-onu-em-semana-mundial-do-solo/> Acessado em Nov/2015.

ORTAS, I.; USTUNER, O. **The effects of single species, dual species and indigenous mycorrhiza inoculation on citrus growth and nutrient uptake**. European Journal of Soil Biology, v 63, p 64–69, 2014.

PEREIRA, B.F.F. **Potencial fitorremediador das culturas de feijão de porco, girassol e milho cultivadas em Latossolo Vermelho contaminado com**

chumbo. 2005. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico, Campinas, 2005.

PERES, S. I. C. **Fitoestabilização de sedimentos contaminados por metais e metaloides**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014.

PIRES, F. R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A.A.; PROCÓPIO, S.O. e FERREIRA, L.R. **Seleção de Plantas com Potencial para Fitorremediação de Tebuthiuron**. Planta Daninha, Rio de Janeiro, v. 21, p. 451-458, 2003.

RASKIN, I.; ENSLEY, B. **Phytoremediation of toxic metals – using plants to clean up the environment**. Plan Science, v. 160, p. 1073 – 1075, 2000.

RIO DE JANEIRO. **Gerenciamento de Áreas Contaminadas do Estado do Rio Janeiro**. Rio de Janeiro: INEA, 2014.

RITER NETTO, A.F.; FREITAS M.S.M.; MARTINS, M.A.; CARVALHO, A.J.C.; VITORAZI FILHO, J.A**. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares na bioprodução de fenóis totais e no crescimento de Passiflora alata Curtis**. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.16, n.1, p.1-9. 2014.

SANTANA, A. N. **Efeito do fungo micorrízico arbuscular e do vermicomposto na fitorremediação do cobre em solo arenoso**. 2014. 56 p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

SANTOS, R. F.; FARIAS, J. G.; SIQUEIRA, J. D. P.; BARZOTTO, F.; NUNES, P. A. A.; GARLET, L. C.; NICOLOSO, F. T. **Contaminação por cobre em solos de vinhedos: efeitos em parâmetros bioquímicos de batata**. Anais do XVI Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão, Santa Maria – RS, 2012.

SÃO PAULO. Decreto nº 59.263 de julho de 2013. **Diário Oficial [do] Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, SP, 6 jun. 2013. p 3.

SÃO PAULO. **Relação de áreas contaminadas e reabilitadas no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2014.

SCHNOOR J. L. e DEE, P. E. **Phytoremediation**. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center, 1997.

SCHUCH, L. F. **Benefícios da associação com *Glomus clarum* e adubação fosfatada em cultivares crioulas de milho**. 2013. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2013.

SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. **A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution**. Mycological Research, 105, p. 1413-1421, 2001.

SHENG, X.; SUN, L.; HUANG, Z.; HE, L.; ZHANG, W.; CHEN, Z. **Promotion of growth and Cu accumulation of bio-energy crop (*Zea mays*) by bacteria: Implications for energy plant biomass production and phytoremediation**. Journal of Environmental Management, 103, p. 58-64. 2012.

SILVA, G. A. **Aspectos taxonômicos e filogenéticos em fungos micorrízicos arbusculares (glomeromycota)**. 2004. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

TAVARES, S. R. L.; OLIVEIRA, S. A.; SALGADO, C. M. **Avaliação de espécies vegetais na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados**. HOLOS, Ano 29, Vol. 5. 2013.

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

USEPA. **Acid digestion of sediments, sludges, and soils**. USEPA, 1996.

VALLADARES, G. S.; CAMARGO, O. A.; AZEVEDO, E. C.; SILVA, A. M. C.; GREGO, C. R. **Variabilidade Espacial e Disponibilidade de Zinco em Solos de Vinhedos e Adjacências**. Bragantia, Campinas, v.68, n.3, p.733-742, 2009.

VIDAL, M. T.; ÁZCON-AGUILAR, C.& BAREA, J. M. **Effect of heavy metals (Zn, Cd and Cu) on arbuscular mycorrhiza formation**. In: SIQUEIRA, J. O. Avanços em fundamentos e aplicações de micorrizas. Capitulo 6: As micorrizas e o excesso de metais. Universidade Federal de Lavras, 1996. 290 p.

WATERLOT, C., BIDAR, G., PELFRÊNE, A., ROUSSEL, H., FOURRIER, H. AND DOUAY, F. **Contamination, fractionation and availability of metals in urban soils in the vicinity of former lead and zinc smelters, France**. Pedosphere. 23(2): 143–159. 2013.

WEI, X., GAOA, B., WANG, P., ZHOUA, H., LU, J. **Pollution characteristics and health risk assessment of heavy metals in street dusts from different functional areas in Beijing, China**. Ecotoxicology and Environmental Safety, 112, 186–192. 2014.

ZEITOUNI, C. F. **Eficiência de espécies vegetais como fitoextratoras de cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco de um latossolo vermelho amarelo distrófico**. 2003. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) Instituto Agronômico, Campinas, 2003.

8. Apêndices

APÊNDICE A – ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS RESPOSTAS AVALIADAS NO EXPERIMENTO DO COBRE

ANOVA - Altura (Cu)

Source Block	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	41,97	3	13,99			
A-Dose	2431,73	4	607,93	30,41	< 0.0001	Significant
B-FMA	*2237,35*	*3*	*745,78*	*37,31*	*< 0.0001*	
Residual	*194,37*	*1*	*194,37*	*9,72*	*0,0047*	
Cor Total	479,74	24	19,99			

Std. Dev.	**4,47**	**R-Squared**	**0,8352**
Mean	20,56	**Adj R-Squared**	0,8078
C.V. %	21,74	**Pred R-Squared**	0,7071
PRESS	852,88	**Adeq Precision**	12,617
-2 Log Likelihood	177,45	**BIC**	205,18
		AICc	199,71

ANOVA - Diâmetro do Caule (Cu)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	2,76	3	0,92			
Model	175,70	7	25,10	74,30	< 0.0001	significant
A-Dose	*147,18*	*3*	*49,06*	*145,23*	*< 0.0001*	
B-FMA	*23,26*	*1*	*23,26*	*68,84*	*< 0.0001*	
AB	*5,26*	*3*	*1,75*	*5,19*	*0,0077*	
Residual	7,09	21	0,34			
Cor Total	185,55	31				

Std. Dev.	**0,58**	**R-Squared**	**0,9612**
Mean	5,87	**Adj R-Squared**	0,9483
C.V. %	9,90	**Pred R-Squared**	0,9099
PRESS	16,47	**Adeq Precision**	21,885
-2 Log Likelihood	42,61	**BIC**	80,73
		AICc	77,81

ANOVA - Massa Seca da Parte Aérea (Cu)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,95	3	0,32			
Model	1081,45	7	154,49	98,16	< 0.0001	significant
A-Dose	*920,71*	*3*	*306,90*	*195,01*	*< 0.0001*	
B-FMA	*101,64*	*1*	*101,64*	*64,58*	*< 0.0001*	
AB	*59,10*	*3*	*19,70*	*12,52*	*< 0.0001*	
Residual	33,05	21	1,57			
Cor Total	1115,45	31				

Std. Dev.	**1,25**	**R-Squared**	**0,9703**
Mean	7,01	**Adj R-Squared**	0,9605
C.V. %	17,89	**Pred R-Squared**	0,9311
PRESS	76,74	**Adeq Precision**	20,965
-2 Log Likelihood	91,85	**BIC**	129,97
		AICc	127,05

ANOVA – Massa Seca da Raiz (Cu)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,40	3	0,13			
Model	181,94	7	25,99	129,55	< 0.0001	significant
A-Dose	*143,90*	*3*	*47,97*	*239,09*	*< 0.0001*	
B-FMA	*12,41*	*1*	*12,41*	*61,87*	*< 0.0001*	
AB	*25,62*	*3*	*8,54*	*42,57*	*< 0.0001*	
Residual	4,21	21	0,20			
Cor Total	186,55	31				

Std. Dev.	**0,45**	**R-Squared**	**0,9774**
Mean	2,64	**Adj R-Squared**	0,9698
C.V. %	16,98	**Pred R-Squared**	0,9474
PRESS	9,78	**Adeq Precision**	22,862
-2 Log Likelihood	25,93	**BIC**	64,05
		AICc	61,13

ANOVA – Conteúdo de Cu na Parte Aérea

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	1,078E-003	3	3,593E-004			
Model	0,028	4	7,026E-003	8,32	0,0002	significant
A-Dose	*0,020*	*3*	*6,815E-003*	*8,07*	*0,0007*	
B-FMA	*7,660E-003*	*1*	*7,660E-003*	*9,07*	*0,0060*	
Residual	0,020	24	8,448E-004			
Cor Total	0,049	31				

Std. Dev.	**0,029**	**R-Squared**	**0,5809**
Mean	0,091	**Adj R-Squared**	0,5111
C.V. %	31,84	**Pred R-Squared**	0,2549
PRESS	0,036	**Adeq Precision**	6,939
-2 Log Likelihood	-144,84	**BIC**	-117,11
		AICc	-122,58

ANOVA - Conteúdo de Cu na Raiz

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,17	3	0,058			
Model	9,00	7	1,29	38,67	< 0.0001	significant
A-Dose	*5,19*	*3*	*1,73*	*51,98*	*< 0.0001*	
B-FMA	*2,00*	*1*	*2,00*	*60,14*	*< 0.0001*	
AB	*1,82*	*3*	*0,61*	*18,21*	*< 0.0001*	
Residual	0,70	21	0,033			
Cor Total	9,87	31				

Std. Dev.	**0,18**	**R-Squared**	**0,9280**
Mean	0,55	**Adj R-Squared**	0,9040
C.V. %	32,98	**Pred R-Squared**	0,8328
PRESS	1,62	**Adeq Precision**	18,515
-2 Log Likelihood	-31,58	**BIC**	6,54
		AICc	3,62

ANOVA - Aumento do pH do solo (Cu)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,26	3	0,086			
Model	1,50	7	0,21	6,55	0,0004	significant
A-Dose	*0,12*	*3*	*0,039*	*1,20*	*0,3356*	
B-FMA	*0,15*	*1*	*0,15*	*4,49*	*0,0463*	
AB	*1,24*	*3*	*0,41*	*12,59*	*< 0.0001*	
Residual	0,69	21	0,033			
Cor Total	2,45	31				

Std. Dev.	**0,18**	**R-Squared**	**0,6858**
Mean	0,45	**Adj R-Squared**	0,5811
C.V. %	40,22	**Pred R-Squared**	0,2705
PRESS	1,60	**Adeq Precision**	9,028
-2 Log Likelihood	-32,02	**BIC**	6,11
		AICc	3,18

ANOVA – Remoção de Cu Biodisponível

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,47	3	0,16			
Model	6,31	3	2,10	8,87	0,0004	significant
A-Dose	*6,31*	*3*	*2,10*	*8,87*	*0,0004*	
Residual	5,93	25	0,24			
Cor Total	12,71	31				

Std. Dev.	**0,49**	**R-Squared**	**0,5156**
Mean	-0,26	**Adj R-Squared**	0,4575
C.V. %	184,30	**Pred R-Squared**	0,2064
PRESS	9,71	**Adeq Precision**	6,035
-2 Log Likelihood	36,86	**BIC**	61,12
		AICc	55,53

Remoção de Cu Total

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	5,500E-003	3	1,833E-003			
Model	2,86	3	0,95	45,26	< 0.0001	significant
A-Dose	*2,86*	*3*	*0,95*	*45,26*	*< 0.0001*	
Residual	0,53	25	0,021			
Cor Total	3,39	31				

Std. Dev.	**0,15**	**R-Squared**	**0,8445**
Mean	0,44	**Adj R-Squared**	0,8258
C.V. %	32,74	**Pred R-Squared**	0,7452
PRESS	0,86	**Adeq Precision**	11,352
-2 Log Likelihood	-40,62	**BIC**	-16,36
		AICc	-21,96

APÊNDICE B - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AS RESPOSTAS AVALIADAS NO EXPERIMENTO DO ZINCO

ANOVA – Altura (Zn)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	33,73	3	11,24			
Model	2965,11	3	988,37	81,34	< 0.0001	significant
A-Dose	*2965,11*	*3*	*988,37*	*81,34*	*< 0.0001*	
Residual	303,78	25	12,15			
Cor Total	3302,62	31				

Std. Dev.	**3,49**	**R-Squared**	**0,9071**
Mean	19,61	**Adj R-Squared**	0,8959
C.V. %	17,78	**Pred R-Squared**	0,8477
PRESS	497,72	**Adeq Precision**	16,011
-2 Log Likelihood	162,83	**BIC**	187,09
		AICc	181,50

ANOVA - Diâmetro do caule (Zn)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	1,41	3	0,47			
Model	204,14	4	51,04	194,56	< 0.0001	significant
A-Dose	*198,53*	*3*	*66,18*	*252,27*	*< 0.0001*	
B-FMA	*5,62*	*1*	*5,62*	*21,42*	*0,0001*	
Residual	6,30	24	0,26			
Cor Total	211,85	31				

Std. Dev.	**0,51**	**R-Squared**	**0,9701**
Mean	5,98	**Adj R-Squared**	0,9651
C.V. %	8,56	**Pred R-Squared**	0,9468
PRESS	11,19	**Adeq Precision**	28,586
-2 Log Likelihood	38,78	**BIC**	66,51
		AICc	61,04

ANOVA - Massa Seca da Parte Aérea (Zn)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	1,22	3	0,41			
Model	1084,93	4	271,23	244,07	< 0.0001	significant
A-Dose	*1077,52*	*3*	*359,17*	*323,21*	*< 0.0001*	
B-FMA	*7,41*	*1*	*7,41*	*6,67*	*0,0163*	
Residual	26,67	24	1,11			
Cor Total	1112,82	31				

Std. Dev.	**1,05**	**R-Squared**	**0,9760**
Mean	6,81	**Adj R-Squared**	0,9720
C.V. %	15,47	**Pred R-Squared**	0,9573
PRESS	47,41	**Adeq Precision**	29,973
-2 Log Likelihood	84,98	**BIC**	112,71

ANOVA – Massa Seca da Raiz (Zn)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	2,65	3	0,88			
Model	191,07	4	47,77	74,35	< 0.0001	significant
A-Dose	*185,34*	*3*	*61,78*	*96,15*	*< 0.0001*	
B-FMA	*5,73*	*1*	*5,73*	*8,92*	*0,0064*	
Residual	15,42	24	0,64			
Cor Total	209,14	31				

Std. Dev.	**0,80**	**R-Squared**	**0,9253**
Mean	2,51	**Adj R-Squared**	0,9129
C.V. %	31,92	**Pred R-Squared**	0,8672
PRESS	27,41	**Adeq Precision**	18,710
-2 Log Likelihood	67,45	**BIC**	95,18
		AICc	89,71

ANOVA - Conteúdo de Zn na Parte Aérea

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	20,63	3	6,88			
Model	4768,91	4	1192,23	59,70	< 0.0001	significant
A-Dose	*4647,93*	*3*	*1549,31*	*77,59*	*< 0.0001*	
B-FMA	*120,97*	*1*	*120,97*	*6,06*	*0,0214*	
Residual	479,25	24	19,97			
Cor Total	5268,79	31				

Std. Dev.	**4,47**	**R-Squared**	**0,9087**
Mean	15,27	**Adj R-Squared**	0,8935
C.V. %	29,26	**Pred R-Squared**	0,8377
PRESS	852,00	**Adeq Precision**	17,223
-2 Log Likelihood	177,42	**BIC**	205,15
		AICc	199,68

ANOVA - Conteúdo de Zn na Raiz

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,38	3	0,13			
Model	6,20	3	2,07	21,78	< 0.0001	significant
A-Dose	*6,20*	*3*	*2,07*	*21,78*	*< 0.0001*	
Residual	2,37	25	0,095			
Cor Total	8,95	31				

Std. Dev.	**0,31**	**R-Squared**	**0,7232**
Mean	0,41	**Adj R-Squared**	0,6900
C.V. %	75,20	**Pred R-Squared**	0,5466
PRESS	3,89	**Adeq Precision**	9,679
-2 Log Likelihood	7,55	**BIC**	31,81
		AICc	26,21

ANOVA - Aumento do pH do solo (Zn)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,035	3	0,012			
Model	0,40	3	0,13	5,39	0,0053	significant
A-Dose	*0,40*	*3*	*0,13*	*5,39*	*0,0053*	
Residual	0,62	25	0,025			
Cor Total	1,05	31				

Std. Dev.	**0,16**	**R-Squared**	**0,3928**
Mean	0,38	**Adj R-Squared**	0,3200
C.V. %	41,43	**Pred R-Squared**	0,0052
PRESS	1,01	**Adeq Precision**	4,859
-2 Log Likelihood	-35,45	**BIC**	-11,19
		AICc	-16,79

ANOVA – Remoção de Zn Biodisponível

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,11	3	0,036			
Model	3,05	7	0,44	53,66	< 0.0001	significant
A-Dose	*2,85*	*3*	*0,95*	*116,64*	*< 0.0001*	
B-FMA	*0,020*	*1*	*0,020*	*2,43*	*0,1341*	
AB	*0,19*	*3*	*0,063*	*7,74*	*0,0011*	
Residual	0,17	21	8,132E-003			
Cor Total	3,33	31				

Std. Dev.	**0,090**	**R-Squared**	**0,9470**
Mean	0,22	**Adj R-Squared**	0,9294
C.V. %	41,03	**Pred R-Squared**	0,8770
PRESS	0,40	**Adeq Precision**	20,697
-2 Log Likelihood	-76,65	**BIC**	-38,53
		AICc	-41,45

ANOVA - Remoção de Zn Total

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Block	0,018	3	6,099E-003			
Model	2,67	3	0,89	62,02	< 0.0001	significant
A-Dose	*2,67*	*3*	*0,89*	*62,02*	*< 0.0001*	
Residual	0,36	25	0,014			
Cor Total	3,04	31				

Std. Dev.	**0,12**	**R-Squared**	**0,8816**
Mean	0,19	**Adj R-Squared**	0,8673
C.V. %	62,65	**Pred R-Squared**	0,8059
PRESS	0,59	**Adeq Precision**	14,732
-2 Log Likelihood	-52,93	**BIC**	-28,67
		AICc	-34,26

APÊNDICE C – RESULTADOS DOS ÍNDICES BIOMÉTRICOS DAS PLANTAS

Tabela 7: Valores de Altura e Diâmetro do caule, após 60 dias, para o experimento do cobre. Legenda: Blx – Bloco da amostra, Cu/Zn – Cobre ou Zinco, Dx – Dose correspondente, F – Inoculado com fungo micorrízico

Cobre								
Tratamento	Altura (cm)				Diâmetro do caule (mm)			
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Média	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Média
1 - Bl1CuDoF	28,5	24,8	25,3	26,2	9,81	9,70	10,49	10,00
2 - Bl2CuDoF	31,5	32,8	24,7	29,7	8,35	10,54	8,63	9,17
3 - Bl3CuDoF	33,0	30,7	25,7	29,8	9,62	11,02	8,76	9,80
4 - Bl4CuDoF	34,8	35,7	25,2	31,9	9,74	7,87	8,20	8,60
5 - Bl1CuDo	29,5	29,4	26,4	28,4	9,04	9,59	8,54	9,06
6 - Bl2CuDo	33,0	38,5	17,8	29,8	4,88	8,12	8,21	7,07
7 - Bl3CuDo	33,0	26,5	24,8	28,1	8,11	9,77	9,53	9,14
8 - Bl4CuDo	32,5	23,3	34,3	30,0	8,91	9,22	10,20	9,44
9 - Bl1CuD1F	30,1	18,5	24,2	24,3	9,52	7,49	6,70	7,90
10 - Bl2CuD1F	32,2	29,7	22,7	28,2	8,26	8,30	6,77	7,78
11 - Bl3CuD1F	40,0	40,0	27,8	35,9	7,30	10,10	6,32	7,91
12 - Bl4CuD1F	30,1	33,1	22,2	28,5	8,43	7,98	8,07	8,16
13 - Bl1CuD1	20,2	34,1	30,0	28,1	6,34	6,02	5,71	6,02
14 - Bl2CuD1	35,7	30,4	25,0	30,4	5,46	4,68	5,51	5,22
15 - Bl3CuD1	34,1	39,4	28,9	34,1	6,14	4,86	4,27	5,09
16 - Bl4CuD1	12,5	13,7	11,5	12,6	3,75	4,98	3,38	4,04
17 - Bl1CuD2F	37,4	18,1	19,1	24,9	7,53	6,34	5,44	6,44
18 - Bl2CuD2F	23,3	18,6	12,2	18,0	5,30	5,60	4,37	5,09
19 - Bl3CuD2F	22,6	26,4	14,4	21,1	5,72	6,35	4,66	5,58
20 - Bl4CuD2F	22,5	30,6	16,2	23,1	6,36	4,98	4,58	5,31
21 - Bl1CuD2	10,1	11,0	9,5	10,2	3,97	3,68	3,46	3,70
22 - Bl2CuD2	11,2	13,5	10,3	11,7	2,90	3,49	3,74	3,38
23- Bl3CuD2	10,0	10,8	8,6	9,8	2,90	3,04	3,37	3,10
24 - Bl4CuD2	11,0	13,0	10,9	11,6	3,33	3,96	4,86	4,05
25 - Bl1CuD3F	14,1	10,9	7,8	10,9	3,64	3,89	3,54	3,69
26 - Bl2CuD3F	11,5	10,0	9,9	10,5	3,92	3,75	3,41	3,69
27 - Bl3CuD3F	17,0	13,5	12,0	14,2	4,95	4,35	3,97	4,42
28 - Bl4CuD3F	13,5	12,1	8,4	11,3	4,62	4,61	2,95	4,06
29 - Bl1CuD3	6,8	6,3	5,1	6,1	3,76	2,62	2,86	3,08
30 - Bl2CuD3	6,0	5,3	6,2	5,8	2,28	2,22	1,38	1,96
31- Bl3CuD3	6,2	6,0	7,1	6,4	2,58	2,52	2,73	2,61
32 - Bl4CuD3	8,5	6,4	4,5	6,5	2,55	3,86	3,68	3,36

Tabela 8: Valores de Altura e Diâmetro do caule, após 60 dias, para o experimento do zinco. Legenda: Blx – Bloco da amostra, Cu/Zn – Cobre ou Zinco, Dx – Dose correspondente, F – Inoculado com fungo micorrízico

Zinco								
Tratamento	Altura				Diâmetro do caule			
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Média	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Média
1 - Bl1ZnDoF	29,5	21,4	30,5	27,1	9,01	10,05	9,96	9,67
2 - Bl2ZnDoF	27,6	24,5	25,8	26,0	10,42	8,60	10,19	9,74
3 - Bl3ZnDoF	35,5	33,0	31,7	33,4	10,71	8,77	8,25	9,24
4 - Bl4ZnDoF	34,9	24,5	34,2	31,2	8,77	8,22	9,77	8,92
5 - Bl1ZnDo	32,4	34,7	25,6	30,9	12,69	7,19	7,85	9,24
6 - Bl2ZnDo	43,5	15,5	40,4	33,1	10,03	5,52	8,69	8,08
7 - Bl3ZnDo	43,3	28,8	29,0	33,7	5,69	6,58	9,84	7,37
8 - Bl4ZnDo	32,1	37,0	26,6	31,9	9,26	9,88	7,19	8,78
9 - Bl1ZnD1F	23,5	21,5	-	22,5	9,15	9,03	-	9,09
10 - Bl2ZnD1F	21,0	25,5	26,1	24,2	8,81	7,09	7,80	7,90
11 - Bl3ZnD1F	23,5	22,4	23,0	23,0	7,64	10,95	6,31	8,30
12 - Bl4ZnD1F	23,1	20,0	34,0	25,7	7,21	9,57	10,02	8,93
13 - Bl1ZnD1	33,0	34,3	25,1	30,8	9,26	6,97	8,73	8,32
14 - Bl2ZnD1	30,5	22,9	22,9	25,4	6,91	7,31	8,28	7,50
15 - Bl3ZnD1	38,8	48,0	23,3	36,7	5,81	7,63	6,01	6,48
16 - Bl4ZnD1	27,2	35,5	20,2	27,6	6,91	5,04	9,47	7,14
17 - Bl1ZnD2F	10,1	13,8	10,2	11,4	4,61	4,14	4,24	4,33
18 - Bl2ZnD2F	18,0	27,1	11,4	18,8	4,78	4,05	3,71	4,18
19 - Bl3ZnD2F	15,0	10,5	9,5	11,7	4,02	5,78	3,11	4,30
20 - Bl4ZnD2F	16,4	17,5	14,4	16,1	4,90	6,09	4,12	5,04
21 - Bl1ZnD2	16,6	5,2	4,0	8,6	4,75	2,85	2,86	3,49
22 - Bl2ZnD2	14,5	9,6	12,3	12,1	4,85	3,40	4,70	4,32
23- Bl3ZnD2	13,3	13,4	14,0	13,6	3,39	4,12	4,12	3,88
24 - Bl4ZnD2	10,7	-	-	10,7	3,39	-	-	3,39
25 - Bl1ZnD3F	5,0	5,4	-	5,2	2,71	2,55	-	2,63
26 - Bl2ZnD3F	12,8	8,1	-	10,5	3,36	4,07	-	3,72
27 - Bl3ZnD3F	7,4	6,1	-	6,8	2,46	3,71	-	3,09
28 - Bl4ZnD3F	7,7	14,1	-	10,9	3,12	3,59	-	3,36
29 - Bl1ZnD3	7,5	-	-	7,5	3,07	-	-	3,07
30 - Bl2ZnD3	11,5	7,0	-	9,3	3,16	2,76	-	2,96
31- Bl3ZnD3	10,6	5,4	-	8,0	2,85	2,23	-	2,54
32 - Bl4ZnD3	3,2	-	-	3,2	2,47	-	-	2,47

Tabela 9: Valores de massa seca da parte aérea e da raiz, após 60 dias, para ambos experimentos. Legenda: Blx – Bloco da amostra, Cu/Zn – Cobre ou Zinco, Dx – Dose correspondente, F – Inoculado com fungo micorrízico

	Cobre		Zinco	
Tratamento	**Massa Seca da Parte Aérea (g/vaso)**	**Massa Seca da Raiz (g/vaso)**	**Massa Seca da Parte Aérea (g/vaso)**	**Massa Seca da Raiz (g/vaso)**
1 - Bl1CuDoF	14,07	5,60	15,93	5,31
2 - Bl2CuDoF	16,27	4,91	13,91	4,64
3 - Bl3CuDoF	16,05	5,55	18,19	6,06
4 - Bl4CuDoF	15,30	5,17	15,16	5,05
5 - Bl1CuDo	13,50	5,93	15,86	5,29
6 - Bl2CuDo	14,33	6,53	14,71	4,90
7 - Bl3CuDo	13,91	4,85	13,15	4,38
8 - Bl4CuDo	15,59	5,87	13,16	4,39
9 - Bl1CuD1F	11,84	5,55	10,32	3,44
10 - Bl2CuD1F	10,94	5,99	9,92	3,31
11 - Bl3CuD1F	15,06	6,36	8,25	2,75
12 - Bl4CuD1F	13,34	5,58	11,51	3,84
13 - Bl1CuD1	7,15	2,71	10,10	3,37
14 - Bl2CuD1	5,74	1,73	7,87	2,62
15 - Bl3CuD1	5,22	1,32	8,73	2,91
16 - Bl4CuD1	1,85	0,78	9,39	3,13
17 - Bl1CuD2F	5,77	1,45	1,99	0,66
18 - Bl2CuD2F	4,84	1,18	2,67	0,89
19 - Bl3CuD2F	4,32	0,97	2,05	0,68
20 - Bl4CuD2F	6,03	1,61	3,54	1,18
21 - Bl1CuD2	1,16	0,60	1,36	0,45
22 - Bl2CuD2	1,15	0,46	1,70	0,57
23- Bl3CuD2	0,80	0,26	2,18	0,73
24 - Bl4CuD2	1,55	0,61	0,76	0,25
25 - Bl1CuD3F	1,16	0,50	0,73	0,24
26 - Bl2CuD3F	1,11	0,41	0,95	0,32
27 - Bl3CuD3F	2,43	0,77	0,52	0,17
28 - Bl4CuD3F	2,20	0,57	1,06	0,35
29 - Bl1CuD3	0,38	0,12	0,52	0,17
30 - Bl2CuD3	0,33	0,13	0,87	0,29
31- Bl3CuD3	0,40	0,13	0,62	0,21
32 - Bl4CuD3	0,64	0,21	0,32	0,11

APÊNDICE D – CONTEÚDO DE CONTAMINANTE NAS PLANTAS

Tabela 10: Conteúdo de contaminante na parte aérea e na raiz, após 60 dias, para ambos experimentos. Legenda: Blx – Bloco da amostra, Cu/Zn – Cobre ou Zinco, Dx – Dose correspondente, F – Inoculado com fungo micorrízico

	Cobre		Zinco	
Tratamento	**Conteúdo na Parte Aérea (mg/vaso)**	**Conteúdo na Raiz (mg/vaso)**	**Conteúdo na Parte Aérea (mg/vaso)**	**Conteúdo na Raiz (mg/vaso)**
1 - Bl1CuDoF	0,07	0,04	1,05	0,04
2 - Bl2CuDoF	0,07	0,02	0,76	0,03
3 - Bl3CuDoF	0,14	0,05	0,68	0,07
4 - Bl4CuDoF	0,09	0,04	0,74	0,06
5 - Bl1CuDo	0,03	0,02	0,83	0,02
6 - Bl2CuDo	0,03	0,00	0,85	0,00
7 - Bl3CuDo	0,04	0,02	0,69	0,01
8 - Bl4CuDo	0,03	0,00	0,79	0,00
9 - Bl1CuD1F	0,13	2,06	33,48	1,47
10 - Bl2CuD1F	0,14	1,48	34,73	1,17
11 - Bl3CuD1F	0,17	1,70	30,92	0,81
12 - Bl4CuD1F	0,14	1,93	36,72	1,98
13 - Bl1CuD1	0,16	0,74	38,17	0,89
14 - Bl2CuD1	0,07	0,31	27,94	0,35
15 - Bl3CuD1	0,07	0,33	26,63	0,59
16 - Bl4CuD1	0,07	0,63	37,37	1,95
17 - Bl1CuD2F	0,07	1,05	19,76	0,47
18 - Bl2CuD2F	0,06	0,73	18,34	0,33
19 - Bl3CuD2F	0,07	0,43	22,35	0,19
20 - Bl4CuD2F	0,07	0,68	30,76	0,35
21 - Bl1CuD2	0,05	0,51	10,30	0,38
22 - Bl2CuD2	0,07	0,31	16,88	0,31
23- Bl3CuD2	0,08	0,29	19,82	0,43
24 - Bl4CuD2	0,08	0,71	6,78	0,05
25 - Bl1CuD3F	0,09	0,55	9,46	0,12
26 - Bl2CuD3F	0,17	0,58	16,67	0,28
27 - Bl3CuD3F	0,13	1,05	6,18	0,15
28 - Bl4CuD3F	0,11	0,44	12,87	0,22
29 - Bl1CuD3	0,14	0,23	5,91	0,08
30 - Bl2CuD3	0,09	0,22	8,67	0,10
31- Bl3CuD3	0,12	0,23	6,61	0,20
32 - Bl4CuD3	0,08	0,29	5,01	0,01

APÊNDICE E – VARIAÇÃO DO PH DO SOLO

Tabela 11: Variação de pH do solo entre o tempo inicial e final, para ambos experimentos. Legenda: Blx – Bloco da amostra, Cu/Zn – Cobre ou Zinco, Dx – Dose correspondente, F – Inoculado com fungo micorrízico, t0 – Tempo inicial, tF – Tempo final

	Cobre			Zinco		
Tratamento	**pH (t0)**	**pH (tF)**	**Diferença**	**pH (t0)**	**pH (tF)**	**Diferença**
1 - Bl1CuDoF	5,44	5,83	0,39	5,35	5,73	0,38
2 - Bl2CuDoF	5,37	5,80	0,43	5,25	5,60	0,35
3 - Bl3CuDoF	5,14	5,79	0,65	5,24	5,80	0,56
4 - Bl4CuDoF	5,16	5,80	0,64	5,35	5,84	0,49
5 - Bl1CuDo	5,24	5,40	0,16	5,15	5,81	0,66
6 - Bl2CuDo	5,17	5,48	0,31	5,27	5,72	0,45
7 - Bl3CuDo	5,31	5,67	0,36	5,27	5,86	0,59
8 - Bl4CuDo	5,23	5,68	0,45	5,43	5,62	0,19
9 - Bl1CuD1F	4,92	5,74	0,82	5,22	5,64	0,42
10 - Bl2CuD1F	4,86	5,64	0,78	5,03	5,56	0,53
11 - Bl3CuD1F	5,17	5,78	0,61	5,05	5,32	0,27
12 - Bl4CuD1F	5,02	5,85	0,83	5,15	5,36	0,21
13 - Bl1CuD1	5,16	5,17	0,01	5,00	5,10	0,10
14 - Bl2CuD1	5,12	5,00	-0,12	5,01	5,03	0,02
15 - Bl3CuD1	5,22	4,88	-0,34	4,94	4,93	-0,01
16 - Bl4CuD1	4,84	5,40	0,56	5,00	5,48	0,48
17 - Bl1CuD2F	4,85	5,38	0,53	4,92	5,16	0,24
18 - Bl2CuD2F	4,70	5,03	0,33	4,85	5,02	0,17
19 - Bl3CuD2F	4,81	4,91	0,10	4,64	4,96	0,32
20 - Bl4CuD2F	4,77	5,40	0,63	4,76	4,97	0,21
21 - Bl1CuD2	4,85	5,35	0,50	4,80	5,19	0,39
22 - Bl2CuD2	4,95	5,40	0,45	4,90	5,08	0,18
23- Bl3CuD2	4,80	5,41	0,61	4,84	5,31	0,47
24 - Bl4CuD2	4,83	5,13	0,30	4,95	5,28	0,33
25 - Bl1CuD3F	4,59	4,84	0,25	4,80	5,16	0,36
26 - Bl2CuD3F	4,47	4,92	0,45	4,81	5,13	0,32
27 - Bl3CuD3F	4,56	4,89	0,33	4,72	5,26	0,54
28 - Bl4CuD3F	4,44	4,96	0,52	4,71	5,18	0,47
29 - Bl1CuD3	4,44	4,90	0,46	4,81	5,39	0,58
30 - Bl2CuD3	4,42	5,29	0,87	4,91	5,51	0,60
31- Bl3CuD3	4,48	5,15	0,67	4,79	5,40	0,61
32 - Bl4CuD3	4,46	5,33	0,87	4,86	5,53	0,67

APÊNDICE F – TABELAS-RESUMO DAS ANÁLISES DO TEOR DE CU E ZN NO SOLO

Tabela 12: Redução da contaminação do solo entre o tempo inicial e final, para o experimento do cobre. Legenda: Blx – Bloco da amostra, Cu/Zn – Cobre ou Zinco, Dx – Dose correspondente, F – Inoculado com fungo micorrízico

	Teor total de Cu no solo			Teor biodisponível de Cu no solo		
Tratamento	**Inicial (mg/kg)**	**Final (mg/kg)**	**Remoção (%)**	**Inicial (mg/kg)**	**Final (mg/kg)**	**Remoção (%)**
1 - Bl1ZnDoF	16,50	3,24	80%	1,21	4,33	-258%
2 - Bl2ZnDoF	15,80	0,48	97%	2,77	3,05	-10%
3 - Bl3ZnDoF	16,00	1,38	91%	1,95	4,66	-139%
4 - Bl4ZnDoF	16,10	0,21	99%	2,12	2,40	-13%
5 - Bl1ZnDo	16,50	0,00	100%	1,46	2,33	-60%
6 - Bl2ZnDo	16,50	0,00	100%	2,03	2,57	-26%
7 - Bl3ZnDo	16,60	0,00	100%	1,37	2,95	-115%
8 - Bl4ZnDo	12,30	0,21	98%	1,13	3,42	-203%
9 - Bl1ZnD1F	94,25	59,75	37%	68,87	55,75	19%
10 - Bl2ZnD1F	89,00	76,75	14%	65,20	65,61	-1%
11 - Bl3ZnD1F	91,25	65,13	29%	69,12	61,39	11%
12 - Bl4ZnD1F	104,13	88,00	15%	58,58	67,37	-15%
13 - Bl1ZnD1	118,25	49,63	58%	63,48	64,15	-1%
14 - Bl2ZnD1	109,13	67,38	38%	64,22	69,74	-9%
15 - Bl3ZnD1	87,38	57,75	34%	52,70	47,26	10%
16 - Bl4ZnD1	188,75	120,63	36%	112,50	113,53	-1%
17 - Bl1ZnD2F	280,00	155,00	45%	172,30	138,68	20%
18 - Bl2ZnD2F	216,25	157,50	27%	162,25	138,76	14%
19 - Bl3ZnD2F	201,25	205,00	-2%	145,83	160,06	-10%
20 - Bl4ZnD2F	217,50	117,00	46%	127,70	134,97	-6%
21 - Bl1ZnD2	188,75	206,25	-9%	142,65	162,27	-14%
22 - Bl2ZnD2	163,75	143,75	12%	121,32	169,82	-40%
23- Bl3ZnD2	207,50	147,50	29%	140,69	169,73	-21%
24 - Bl4ZnD2	183,75	127,50	31%	139,46	137,18	2%
25 - Bl1ZnD3F	368,75	291,25	21%	247,55	237,00	4%
26 - Bl2ZnD3F	346,25	248,75	28%	291,67	267,42	8%
27 - Bl3ZnD3F	372,50	306,25	18%	286,76	282,30	2%
28 - Bl4ZnD3F	398,75	263,75	34%	281,86	247,60	12%
29 - Bl1ZnD3	503,75	377,50	25%	291,67	340,00	-17%
30 - Bl2ZnD3	402,50	260,00	35%	286,76	249,59	13%
31- Bl3ZnD3	507,50	296,25	42%	291,67	269,42	8%
32 - Bl4ZnD3	383,75	343,75	10%	274,51	305,56	-11%

Tabela 13: Redução da contaminação do solo entre o tempo inicial e final, para o experimento do zinco. Legenda: Blx – Bloco da amostra, Cu/Zn – Cobre ou Zinco, Dx – Dose correspondente, F – Inoculado com fungo micorrízico

	Teor total de Zn no solo			Teor biodisponível de Zn no solo		
Tratamento	**Inicial (mg/kg)**	**Final (mg/kg)**	**Remoção (%)**	**Inicial (mg/kg)**	**Final (mg/kg)**	**Remoção (%)**
1 - Bl1ZnDoF	16,90	25,00	-48%	4,20	4,80	-14%
2 - Bl2ZnDoF	16,60	21,40	-29%	3,75	4,31	-15%
3 - Bl3ZnDoF	14,90	20,30	-36%	4,33	4,37	-1%
4 - Bl4ZnDoF	18,00	21,30	-18%	4,15	5,17	-25%
5 - Bl1ZnDo	16,70	20,40	-22%	3,90	5,67	-45%
6 - Bl2ZnDo	16,80	21,50	-28%	4,26	6,85	-61%
7 - Bl3ZnDo	16,60	20,70	-25%	3,86	5,40	-40%
8 - Bl4ZnDo	17,80	20,10	-13%	4,27	5,21	-22%
9 - Bl1ZnD1F	262,00	221,00	16%	198,12	178,92	10%
10 - Bl2ZnD1F	340,00	295,00	13%	236,11	203,84	14%
11 - Bl3ZnD1F	262,00	230,00	12%	238,15	164,62	31%
12 - Bl4ZnD1F	348,00	329,00	5%	258,99	180,96	30%
13 - Bl1ZnD1	320,00	227,00	29%	265,11	169,12	36%
14 - Bl2ZnD1	376,00	236,00	37%	253,27	187,09	26%
15 - Bl3ZnD1	302,00	286,00	5%	294,93	191,58	35%
16 - Bl4ZnD1	384,00	265,00	31%	284,72	182,60	36%
17 - Bl1ZnD2F	672,00	386,00	43%	522,87	285,54	45%
18 - Bl2ZnD2F	576,00	502,00	13%	526,96	374,59	29%
19 - Bl3ZnD2F	1064,00	540,00	49%	943,62	392,16	58%
20 - Bl4ZnD2F	772,00	416,00	46%	608,66	361,52	41%
21 - Bl1ZnD2	634,00	436,00	31%	514,70	366,42	29%
22 - Bl2ZnD2	760,00	448,00	41%	584,15	364,79	38%
23- Bl3ZnD2	802,00	428,00	47%	592,32	321,08	46%
24 - Bl4ZnD2	522,00	394,00	25%	453,43	327,20	28%
25 - Bl1ZnD3F	1110,00	498,00	55%	841,50	398,69	53%
26 - Bl2ZnD3F	822,00	614,00	25%	690,36	510,75	26%
27 - Bl3ZnD3F	1086,00	532,00	51%	861,92	428,92	50%
28 - Bl4ZnD3F	1388,00	578,00	58%	976,30	395,42	59%
29 - Bl1ZnD3	1062,00	524,00	51%	959,96	449,34	53%
30 - Bl2ZnD3	952,00	426,00	55%	702,61	356,62	49%
31- Bl3ZnD3	880,00	490,00	44%	763,89	366,42	52%
32 - Bl4ZnD3	1002,00	528,00	47%	816,99	390,11	52%