

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – ICIAG**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUALIDADE AMBIENTAL**

**FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO VEGETAL E DA  
FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS EM COMBINAÇÃO COM  
BIOCHAR**

**CHRISTYAN PAIVA FARIAS**

**UBERLÂNDIA/MG**  
**2018**

CHRISTYAN PAIVA FARIAS

FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO VEGETAL E DA  
FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS EM COMBINAÇÃO COM  
BIOCHAR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de  
Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado,  
área de concentração em Qualidade Ambiental, para  
obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Lucas Carvalho Basílio de Azevedo

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

- F224f  
2018
- Farias, Christyan Paiva, 1993  
Fungos promotores do crescimento vegetal e da fitorremediação de metais pesados em combinação com biochar / Christyan Paiva Farias. - 2018.  
87 f. : il.
- Orientador: Lucas Carvalho Basílio de Azevedo.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental.  
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.713>  
Inclui bibliografia.
1. Qualidade ambiental - Teses. 2. Lixiviação bacteriana - Teses. 3. Metais pesados - Aspectos ambientais - Teses. 4. Microorganismos - Teses. I. Azevedo, Lucas Carvalho Basílio de. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. III. Título.

---

CDU: 574

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

CHRISTYAN PAIVA FARIAS

FUNGOS PROMOTORES DO CRESCIMENTO VEGETAL E DA  
FITORREMEDIAÇÃO DE METAIS PESADOS EM COMBINAÇÃO COM O  
BIOCHAR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental – Mestrado, área de concentração em Qualidade Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADO em 27 de fevereiro de 2018.

Prof. Dr. Edmar Isaías de Melo

UFU

Prof. Dr. Denis Coelho Oliveira

UFU

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana Araújo Santos Martins

IFTM



Prof. Dr. Lucas Carvalho Basilio de Azevedo  
ICIAG-UFU  
(Orientador)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

***Dedico** este trabalho aos meus familiares, avós, a minha mãe que me impulsionou e me apoiou a cumprir mais essa etapa da minha vida e a minha namorada Verônica, que esteve sempre do meu lado e me fez acreditar que eu posso me superar a cada dia que se passa.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente à empresa Biosag – Comércio e Serviços Agrícolas Ltda pelo financiamento da pesquisa e da bolsa de mestrado, com toda certeza ela fez com que eu me dedicasse com todas minhas forças a concluir essa etapa, obrigado por essa parceria.

Agradeço aos amigos que fiz durante essa caminhada, Rafael, Felipe e Larissa, que tanto fizeram para que essa etapa se concluísse com êxito, obrigado por tudo. A técnica do LAMIC, Júlia, muito obrigado por todos ensinamentos, tanto profissionais como pessoais, você é uma pessoa iluminada e de um caráter fantástico. Agradeço ao professor Ednaldo por todas monitorias e ensinamentos e ao meu orientador Lucas Carvalho, que sempre me orientou com extrema competência e que fez de tudo para que essa etapa fosse finalizada, minha eterna gratidão a essa pessoa.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO .....	3
<b>2.1 Fungos Promotores do Crescimento Vegetal (FPCV) .....</b>	<b>3</b>
2.1.1 <i>Metarhizium e Beauveria</i> .....	4
2.1.1.1 Entomopatogenia, colonização do tecido vegetal e benefícios.....	4
2.1.2 <i>Trichoderma e Purpureocillium lilacinum</i> .....	5
2.1.3 <i>Pochonia chlamydosporia</i> .....	6
2.1.4 <i>Influência dos FPCV na simbiose entre raízes e fungos micorrízicos arbusculares (FMA)</i> .....	7
2.1.5 <i>FPCV e fitorremediação de solos contaminados com metais pesados</i> .....	8
<b>2.2 Biochar .....</b>	<b>9</b>
2.2.1 <i>Produção e características</i> .....	9
2.2.2 <i>Efeitos do biochar no solo e promoção do crescimento vegetal</i> .....	10
2.2.3 <i>Biochar e metais pesados</i> .....	11
<b>2.3 Remediação de solos contaminados com metais pesados .....</b>	<b>12</b>
2.3.1 <i>Contaminação por metais pesados</i> .....	12
2.3.2 <i>Fitorremediação de metais pesados</i> .....	13
2.3.3 <i>Poder de acúmulo de metais pesados pelas plantas</i> .....	14
<b>CAPÍTULO 2: CONSÓRCIO DE CINCO ISOLADOS DE FUNGOS QUE CONDICIONAM O CRESCIMENTO RADICULAR E MICORRIZAS ARBUSCULARES EM SOJA, MILHO E CANA-DE-AÇÚCAR .....</b>	<b>26</b>
1 RESUMO.....	26
2 ABSTRACT.....	27
3 INTRODUÇÃO .....	28
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	30
<b>4.1 Ensaio em casa-de-vegetação.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Preparo de inóculo do consórcio de fungos .....</b>	<b>31</b>
<b>4.3 Inóculo nas sementes .....</b>	<b>31</b>
<b>4.4 Inóculo na parte aérea .....</b>	<b>32</b>
<b>4.5 Desenvolvimento vegetal .....</b>	<b>32</b>
<b>4.6 Fertilidade do solo e nutrição foliar e de grãos .....</b>	<b>33</b>

<b>4.7 Colonização micorrízica arbuscular</b> .....	33
<b>4.8 Estatística</b> .....	33
<b>5 RESULTADOS</b> .....	34
<b>5.1 Desenvolvimento vegetal</b> .....	34
<b>5.2 Colonização micorrízica arbuscular</b> .....	36
<b>5.3 Análise do tecido vegetal</b> .....	36
<b>5.4 Fertilidade do solo</b> .....	37
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	40
<b>CAPÍTULO 3: FUNGOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO VEGETAL E BIOCHAR NA FITOEXTRAÇÃO DE COBRE, MANGANÊS E ZINCO POR <i>JACARANDA MIMOSIFOLIA</i> D. DON</b> .....	48
<b>1 RESUMO</b> .....	48
<b>3 INTRODUÇÃO</b> .....	50
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	52
<b>4.1 Ensaios em casa-de-vegetação</b> .....	52
<b>4.2 Contaminação do solo com os metais pesados</b> .....	53
<b>4.3 Mudas de Jacarandá mimoso</b> .....	53
<b>4.4 Inóculo do consórcio de fungos promotores do crescimento vegetal (FPCV)</b> ...	53
<b>4.5 Biochar</b> .....	54
<b>4.6 Fotossíntese</b> .....	54
<b>4.7 Crescimento vegetal</b> .....	55
<b>4.8 Análise química do solo</b> .....	55
<b>4.9 Metais pesados no tecido vegetal</b> .....	55
<b>4.10 Metais pesados nos lixiviados</b> .....	56
<b>4.11 Fatores de bioconcentração (FB), translocação (FT) e lixiviação (FL)</b> .....	56
<b>4.12 Estatística</b> .....	57
<b>5 RESULTADOS</b> .....	58
<b>5.1 Desenvolvimento vegetal</b> .....	58
<b>5.2 Metais na planta</b> .....	58
<b>5.3 Metais no solo e lixiviado</b> .....	62
<b>5.4 Fatores de bioconcentração (FB), translocação (FT) e lixiviação (FL)</b> .....	63
<b>5.5 Análise química do solo</b> .....	65
<b>5.6 Fotossíntese</b> .....	66
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	68
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	71



## RESUMO

FARIAS, CHRISTYAN PAIVA. **Fungos promotores do crescimento vegetal e da fitorremediação de metais pesados em combinação com biochar.** 2018. 93 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG<sup>1</sup>.

A busca por medidas sustentáveis para melhorar e suprir a demanda por alimentos que o crescimento populacional exige, aliado a escassez de terras produtivas, além do acúmulo excessivo de metais no ambiente devido a atividades como mineração e aplicação de fertilizantes no solo, foram as duas problemáticas que motivaram o presente estudo. O uso de fungos promotores do crescimento vegetal: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*, pode tanto vir a influenciar o aumento da produtividade como potencializar a fitorremediação de metais pesados no solo. Esses fatos são explicados pela capacidade do consórcio fúngico de sintetizar e induzir as plantas a produzir fitohormônios direcionados para o melhor desenvolvimento das raízes do hospedeiro. O maior desenvolvimento de raízes pode estimular a fitoextração de metais do solo e conferir tolerância das plantas à contaminação. Na intenção de avaliar a influência dos fungos no desenvolvimento das plantas, foram realizados tratamentos das sementes de soja e milho e aplicação na parte aérea da cultura da cana-de-açúcar. Já para analisar a influência desses organismos no processo de fitorremediação de Cu, Zn e Mn em colunas de solos cultivados com *Jacaranda mimosifolia* D. Don, os fungos foram inoculados no solo e na parte aérea das plantas. Todos os tratamentos tiveram 6 repetições e suas médias foram submetidas à análise de variância e teste de média ao nível de 5% de probabilidade. O consórcio fúngico condicionou o crescimento de raízes de soja e milho, aumentou a colonização micorrízica arbuscular em soja e cana-de-açúcar. No jacarandá, os fungos melhoraram o desenvolvimento de raízes e parte aérea, maior acúmulo de Mn e Zn na planta, melhor translocação de Mn e Zn das raízes para a parte aérea, além de diminuir o estresse fisiológico. Além disso, a aplicação conjunta de fungos e biochar nas mudas proporciona proteção à sua atividade fotossintética e reduz o risco ambiental de contaminação por metais por diminuir o total de Cu, Mn e Zn lixiviado. O biochar foi adquirido por meio da pirólise lenta do resíduo do beneficiamento da madeira de eucalipto e aplicado superficialmente no solo. Com isso, esse estudo mostrou que os fungos utilizados apresentam potencial para colaborar com o aumento da produtividade de culturas comerciais e colaborar com a melhoria na remediação de solos contaminados com íons metálicos.

**Palavras-chave:** Condicionadores do solo. Fungos endofíticos. Entomopatogênicos. Fitoextração. Contaminação por metais pesados. Lixiviação de metais.

---

<sup>1</sup> Orientador: Lucas Carvalho Basilio de Azevedo - UFU.

## ABSTRACT

FARIAS, CHRISTYAN PAIVA. **Fungi promoting plant growth and phytoremediation of heavy metals in combination with biochar**. 93 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG<sup>2</sup>.

The search for sustainable measures to improve and meet the demand for food that population growth requires, combined with the scarcity of productive land, in addition to the excessive accumulation of metals in the environment due to activities such as mining and application of soil fertilizers, were the two problems that motivated the present study. The use of fungi plant growth promoters: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* and *Trichoderma asperella* can both influence on increasing productivity as the phytoremediation of heavy metals in the soil. These facts are explained by the capacity of the fungal Consortium to synthesize and induce plants to produce phytohormone targeted for the better development of the roots of the host. The further development of roots can stimulate phytoextraction of metals from the soil and give plants tolerance to contamination. In order to evaluate the influence of fungi on the development of plants, were done seed treatments of soybeans and corn and application in aerial part of the culture of sugar cane. To analyze the influence of these organisms in the process of phytoremediation of Cu, Zn and Mn in soil columns cultivated with *Jacaranda mimosifolia* D. Don, fungi were inoculated in soil and aerial part of plants. All treatments had 6 repetitions and their averages were subjected to analysis of variance and average test at 5% probability. The fungal consortium has conditioned the growth of roots of soybeans and corn, mycorrhizal colonization increased in soybeans and sugar cane. In jacarandá, fungi have improved the development of roots and shoots, greater accumulation of Mn and Zn in plant, best of Mn and Zn translocation from roots to shoots, in addition to decrease physiological stress. In addition, the joint application of fungus and biochar in seedlings provides protection to photosynthetic activity and reduces the risk of environmental contamination by metals by decreasing the amount of Cu, Mn and Zn leached. The biochar was acquired through the slow pyrolysis of the eucalyptus wood processing residue and applied superficially to the soil. With that, this study showed that fungi used present potential to contribute to the increased productivity of commercial crops and contribute to the improvement in the remediation of soils contaminated with metal ions.

**Keywords:** Soil conditioners. Endophytic fungi. Entomopathogenic. Phytoextraction. Heavy metal contamination. Leaching of metals.

---

<sup>2</sup> Advisor: Lucas Carvalho Basilio de Azevedo - UFU.

# CAPÍTULO 1

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Novos métodos para intensificar a produção de alimentos no mundo devem ser propostos. O intuito principal é suprir a elevada demanda, instituída pela explosão populacional nos últimos tempos (DUBEY et al., 2016). Apesar de que seja de conhecimento a crescente produção de alimentos nas últimas décadas (FAOSTAT, 2011; PINGALI, 2012), ela é primordialmente baseada no uso de fertilizantes, pesticidas e melhoramento genético das culturas (AHMAD et al., 2012; MANNION; MORSE, 2012). Esse sistema de produção, baseado no uso de insumos, pode ocasionar impactos negativos ao ambiente (PARMESAN; YOHE, 2003).

Uma opção para aumentar a produtividade agrícola de forma mais natural é a utilização de microrganismos, como os fungos promotores do crescimento vegetal (FPCV). Esses fungos são capazes de infectar insetos e microrganismos maléficos as culturas, colonizarem tecidos vegetais e promover o crescimento das plantas (SASAN; BIDOCHKA, 2012; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014; BARELLI et al., 2016). A promoção do crescimento é dependente da interação da planta com os fungos, podendo envolver produção de fitohormônios, indisponibilização de espécies químicas tóxicas, controle de pragas e doenças, interação com microrganismos benéficos, como os fungos micorrízicos arbusculares, e solubilização de nutrientes (JUNG et al., 2012; OGGERIN et al., 2013; LIAO et al., 2014).

Outro desafio a ser solucionado é a contaminação de ambientes por metais pesados. Essa contaminação é consequência do crescente uso de metais pesados dentro dos processos industriais, principalmente devido à evolução tecnológica, iniciada na primeira revolução industrial (PAZ-FERREIRO et al., 2014; DIXIT et al., 2015). Os metais se acumulam em diferentes ambientes no planeta, seja por fontes naturais, como meteorização de minerais, atividade vulcânica e erosão, e/ou por fontes antropogênicas, como mineração, galvanoplastia, aplicação recorrente de alguns pesticidas, tráfego de automóveis, dentre outras (WUANA; OKIEIMEN, 2011).

Diversas técnicas físico-químicas foram desenvolvidas para remediação de solos contaminados com íons metálicos, como a vitrificação *in situ*, solidificação e lavagem do solo. Todavia, os efeitos negativos gerados ao ambiente, como a geração de subprodutos prejudiciais ao meio (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; FOMINA; GADD, 2014), e o alto custo de implantação tornam essas técnicas inviáveis em muitos casos (THAKUR; SHARMA, 2015). Dentro desse

contexto, a fitorremediação surge como uma alternativa interessante de remediação de solos com presença de metais pesados, visto que essa técnica proporciona menor impacto ao ambiente. Nessa remediação, as plantas acumulam e estabilizam os metais nas raízes ou na parte aérea, tornando possível a retirada deles do solo (THAKUR et al., 2016).

Uma das formas de incrementar a retirada de metais pesados utilizando plantas, é condicionar o meio para o melhor crescimento delas, com o uso dos FPCV e da adição do biochar ao solo (produto provindo da pirólise da matéria orgânica a elevadas temperaturas). Os FPCV proporcionam uma melhoria na fitoextração de íons metálicos do solo, pelo fato de favorecerem o aumento do sistema radicular (MACIÁ-VICENTE et al., 2009b; JABER; ENKERLI, 2016). Esse aumento de raízes é relatado como resultado da regulação de síntese de fitohormônios pelos fungos (LIAO et al., 2014) e pelas plantas hospedeiras (MACIÁ-VICENTE et al., 2009a; MARTÍNEZ- MEDINA et al., 2014). Já o biochar colabora com o melhor crescimento das plantas pelo fato de ser considerado uma fonte de nutrientes e ainda apresentar efeitos benéficos no enriquecimento na diversidade de microrganismos do solo (SOLAIMAN et al., 2010).

Baseado no exposto, o presente estudo tem dois objetivos: (1) avaliar o crescimento vegetal e a colonização micorrízica arbuscular da cana-de-açúcar, milho e soja sob tratamento de aplicação de cinco FPCV; e (2) analisar a absorção de Cu, Mn e Zn em colunas de solo por mudas de Jacarandá mimoso sob inóculo de FPCV e aplicação de biochar. Ambos os experimentos foram realizados em casa-de-vegetação.

## 2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

### 2.1 Fungos Promotores do Crescimento Vegetal (FPCV)

Fungos entomopatogênicos são caracterizados como biopesticidas, pelo fato de parasitarem insetos, porém, também propiciam o desenvolvimento das plantas e incrementam a produção de culturas (LACEY, 2015). Além de infectar insetos, existem diversos fungos que apresentam a capacidade de infectar, matar e digerir nematoides, sendo chamados de fungos nematófagos (NORDBRING- HERTZ; JANSSON; TUNLID, 2006). Alguns desses são localizados na região entorno das raízes de cultura de significativa importância, já outros possuem a capacidade de colonizarem tecidos das raízes (LOPEZ-LLORCA et al., 2006).

Assim, além de infectar insetos, nematoides e outros fungos, alguns deles também colonizam tecidos de plantas e podem trazer outros benefícios ao vegetal (BIDOCHKA, 2012; BARELLI et al., 2016). Esses fungos são denominados de endófitos pelo potencial de colonizar tecidos vegetais internos ao decorrer de todo ou parte do seu ciclo de vida (JABER; ENKERLI, 2016). Uma hipótese para a existência dessa associação é a de que a colonização nas raízes por fungos patogênicos de insetos foi uma adaptação como alternativa de sobrevivência para a falta de um inseto hospedeiro (HU; ST LEGER, 2002). Essa associação pode trazer melhor desenvolvimento vegetal e melhoria na nutrição de N e fotossintatos aos fungos endofíticos, em uma provável relação de intercâmbio de metabólitos ainda não compreendida totalmente.

Dentre os poucos estudos que focam na interação direta entre os fungos endófitos entomopatogênicos e a planta hospedeira, a maioria concentra-se em documentar que essa simbiose gera benefícios contra pragas e doenças (QUESADA-MORAGA; LOPEZ-DIAZ; LANDA, 2014). No entanto, há indicações de que os mecanismos de promoção de crescimento vegetal podem ser próprios de cada interação isolado fúngico-planta, mas pode envolver combate às pragas e doenças, produção de fitohormônios, complexação e indisponibilização de espécies químicas tóxicas, interação com microrganismos benéficos e solubilização de nutrientes (JUNG et al., 2012; OGGERIN et al., 2013; LIAO et al., 2014).

Para alguns fungos promotores de crescimento vegetal, há certa documentação científica da sua biologia e efeitos em insetos, pragas e plantas, como por exemplo: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella* (LOPEZ; SWORD, 2015; ABDELRAHMAN et al., 2016; ESCUDERO et al., 2016; MARRI et al., 2016).

### 2.1.1 *Metarhizium e Beauveria*

#### 2.1.1.1 Entomopatogenia, colonização do tecido vegetal e benefícios

Os fungos do gênero *Metarhizium* spp. são capazes de intoxicar insetos e microrganismos patogênicos devido à produção de metabólitos secundários (CAROLLO et al., 2010). Esses metabólitos incluem compostos como as destruxinas, que é um composto semelhante a citocalasina e furasina (GIBSON et al., 2014). Similarmente, o fungo *Beauveria* produz a beauvericina, que é antibacteriana, anti-fúngica e possui competência de inibir a atividade de insetos (WANG; XU, 2012).

A colonização e estabelecimento de uma simbiose eficiente depende da adesão do fungo à superfície da planta. Um exemplo dessa necessidade de se aderir a superfície do vegetal pode ser visto no fungo *Metarhizium robertsii*, onde sua ligação as raízes dependem de uma adesina vegetal codificada por um gene presente em seu DNA (WANG; ST. LEGER, 2007). Quando o fungo entra na planta, ele deve evitar o sistema de defesa dela, uma vez que ele pode causar a morte do fungo. No entanto, fungos endófitos e outros colonizadores de raízes de plantas conseguem se comunicar com a planta e estabelecer a associação (BARELLI et al., 2016).

Para *Beauveria*, o foco maior na pesquisa é em relação a sua aptidão de colonizar os tecidos vegetais (JABER; ENKERLI, 2016). A dupla funcionalidade (patogênese de insetos e colonização de raízes de plantas) dos fungos *Metarhizium* e *Beauveria* sugere que eles infectam insetos na intenção de adquirir nitrogênio e transferir para as plantas que estão hospedadas (BEHIE; BIDOCKA, 2014). Com isso, as plantas possuem alguma forma de readquirir o nitrogênio perdido na ação de organismos herbívoros. Os fungos recebem carbono na forma de fotossintatos. Isso tem importância porque o carbono no solo é principalmente de fontes recalcitrantes e pouco disponíveis (BARELLI et al., 2016).

Alguns benefícios relatados do fungo *Metarhizium* são a promoção do crescimento de plantas, incremento da produção primária dos sistemas agrícolas e proteção contra insetos e patógenos (BARELLI et al., 2016). Um efeito bem comum é sobre o desenvolvimento das raízes. Um aumento significativo de raízes laterais e formações de pelos radiculares foi identificado em plantas tratadas com fungos do gênero *Metarhizium*, quando comparado com plantas não tratadas (SASAN; BIDOCKA, 2012). Segundo Sasan e Bidocka (2012), a colonização da raiz de gramas por fungos *Metarhizium robertsii*, leva a um expressivo crescimento do sistema radicular, que por sua vez, pode resultar em uma maior interação entre hifas dos fungos e raízes das plantas.

### 2.1.2 *Trichoderma* e *Purpureocillium lilacinum*

Para os fungos promotores do crescimento vegetal (FPCV) do gênero *Trichoderma* foram propostos vários mecanismos que explicam o crescimento em tamanho e o aumento da resistência das plantas a doenças (MARTÍNEZ- MEDINA et al., 2014). Dentre eles, pode-se citar a interação do fungo com a produção de hormônios de crescimento da planta, como a auxina e ácido abscísico (RAGHAVENDRA et al., 2010; SIMON; PETRASEK, 2011) e também do ácido 1-carboxílico- 1- aminociclopropano (ACC) deaminase (MARTÍNEZ- MEDINA et al., 2014). Essa enzima reduz a concentração de ACC, que é um precursor na metabolização do etileno (hormônio que ajuda as plantas a sobreviverem em condição de estresse) (HAN et al., 2015).

O fungo entomopatogênico e endófito *Purpureocillium lilacinum* produz substâncias poliméricas extracelulares, que apresentam sítios interfaciais ativos. Por meio desses sítios, esse fungo consegue adsorver e complexar espécies de metais aquosas dissolvidas, induzindo a nucleação e precipitação de minerais (OGGERIN et al., 2013), protegendo assim as plantas do estresse gerado pelos íons metálicos tóxicos (MISHRA; SINGH; ARORA, 2017). Além disso, esse fungo produz o fitohormônio ácido indolacético, e ainda apresentam várias atividades antifúngicas, como a produção de amônia e de enzimas hidrolíticas, capazes de degradarem as paredes celulares dos fungos fitopatogênicos (CAVELLO et al., 2015).

Fungos do gênero *Trichoderma* são utilizados, usualmente, com a finalidade de combater diferentes patógenos de culturas e para impulsionar o desenvolvimento das plantas (LORITO et al., 2010). A maioria dos estudos com o fungo está voltada para a função de biocontrole de pragas, com foco principalmente no papel das enzimas produzidas, tais como proteases e quitinases, e nos antibióticos envolvidos nos processos de micro-parasitismo (VITERBO et al., 2002). Além disso, o *Trichoderma* melhora o sistema de defesa vegetal pela interação planta e fungo (MARTINEZ- MEDINA et al., 2013).

Foi relatada a produção de ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) e ácido abscísico (ABA) pelas plantas, na presença do *Trichoderma* que estão relacionados com o aumento da tolerância da planta a condições estressantes (CONTRERAS- CORNEJO et al., 2011). O ácido abscísico é o hormônio que tem como função promover o crescimento e desenvolvimento das plantas no frio, seca, em ambientes salinos, ou seja, em situações de estresse.

O ABA está relacionado ao aumento da resistência das plantas contra o estresse abiótico (RAGHAVENDRA et al., 2010). Em estágios iniciais, onde a concentração do fungo é maior, incrementos na produção de ácido jasmônico e salicílico podem ocorrer, o que leva a entender

que a resposta inato-imune das plantas depende do tempo de interação e da concentração dos hospedeiros fúngicos (BROTHMAN et al., 2012; HERMOSA et al., 2013). A produção de ácido jasmônico (AJ) e ácido salicílico (AS) na presença de fungos benéficos, fornece à planta uma resposta mais eficiente ao ataque de patógenos, portanto propiciando um sistema imunológico melhor (CONRATH et al., 2006).

### 2.1.3 *Pochonia chlamydosporia*

O fungo *Pochonia chlamydosporia* coloniza a rizosfera e as raízes das plantas (MACIÁ-VICENTE et al., 2009a; ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012). Essa colonização tem efeito sobre a sanidade vegetal. A presença do fungo *Pochonia chlamydosporia* na rizosfera interfere na invasão de nematoides nas raízes de tomate (TOBIN et al., 2008). A causa da redução da invasão de nematoides nas raízes pode ser a produção de metabólitos secundários com características antifúngicas e nematicidas (NIU et al., 2010) ou a ação das proteases, que apresentam potencial de combater nematoides (ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012).

O *P. chlamydosporia* também pode melhorar a tolerância a estresses ambientais. Fungos endófitos como o *P. chlamydosporia* alteram o transcriptoma de plantas de cevada, fazendo com que as plantas respondam ao estresse gerado por fatores bióticos e abióticos (SCHÄFER et al., 2009). O fungo *Pochonia chlamydosporia*, além de combater nematoides fitopatogênicos de (ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012), também tem sido utilizado na promoção do crescimento de plantas, como a alface (DIAS-ARIEIRA et al., 2011).

Em resposta à colonização endofítica desses fungos, é evidenciado, na planta, uma expressão de genes relacionados à biossíntese e transporte de hormônios de crescimento (SCHÄFER et al., 2009). Em plantas colonizadas pelo fungo, tem sido relatado incrementos na formação de raízes laterais (ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012), melhoria da fertilidade (MACIÁ-VICENTE et al., 2009b) e tolerância das plantas aos nematoides (ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012). Portanto, a colonização de raízes por *Pochonia chlamydosporia* proporciona proteção contra agentes patogênicos, como fungos e nematoides, e promoção do crescimento vegetal (MACIÁ-VICENTE et al., 2009b).



#### 2.1.4 Influência dos FPCV na simbiose entre raízes e fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

Os FMA além de contribuírem na melhora da estabilidade do solo e da aquisição de nutrientes para as plantas (SMITH et al., 2010), também influenciam na ciclagem de nutrientes no ambiente (RILLIG; MUMMEY, 2006). A interação entre plantas e os FMA é mediada pelo balanço hormonal dentro da planta, sendo que o ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) e ácido abscísico (ABA), influenciam em tal relação simbiótica (BLILOU; OCAMPO; GARCÍA-GARRIDO, 1999; BALLARÉ, 2011, JUNG et al., 2012). Compostos como o AJ podem preparar a planta para receberem tais fungos em questão (WORRALL et al., 2011).

Em plantas hospedadas pelo fungo *Trichoderma* foram identificados produção de AJ, AS e ABA, que estão relacionados com o aumento da tolerância da planta a condições estressantes (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2011; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2011). AJ e ABA foram vistos com possíveis reguladores da interação entre fungos micorrízicos e raízes de plantas (CONRATH et al., 2006; BALLARÉ, 2011; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2011; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2011; LEÓN-MORCILLO et al., 2012; JUNG et al., 2012).

O ácido abscísico é o hormônio que tem como função promover o crescimento e desenvolvimento das plantas no frio, seca, em ambientes salinos, ou seja, em situações de estresse. Portanto, esse hormônio está relacionado ao aumento da resistência das plantas contra o estresse abiótico (RAGHAVENDRA et al., 2010). Alguns isolados de *Trichoderma* são conhecidos por produzir ACC deaminase, o que reduz a disponibilidade do ACC necessário para a biossíntese de etileno (VITERBO et al., 2010). Em um experimento com tomates alterados geneticamente para não sintetizarem ABA, e comparando com plantas não modificadas, verificou-se que a intensidade de colonização nas raízes por FMA e abundância de arbúsculos formados foram reduzidas drasticamente (HERRENA-MEDINA et al., 2007). Uma das explicações para tal acontecimento é de que o ABA afeta negativamente a produção de etileno, sendo que esse último foi mostrado como um agente que afeta negativamente a colonização por FMA nas raízes (FRACETTO et al., 2013).

Além disso, em plantas de *Medicago truncatula* alteradas geneticamente para sintetizarem menores quantidades de AJ, houve a redução na quantidade de FMA que colonizaram as raízes e também nos arbúsculos (ISAYENKOV et al., 2005). Em sua revisão, Hause et al. (2007) sugeriram supostos mecanismos do AJ que colaboram na simbiose entre FMA, dentre eles a indução na síntese de flavonoides, que são sinais de estímulo para colonização (HARRISON, 1999) e reorganização do citoesqueleto microtubular após a

colonização das raízes por FMA. Da mesma forma que foi observado essa reorganização do citoesqueleto dos microtubulos após a aplicação de AJ (MATSUKI et al., 1992), houve também em raízes micorrízicas (GENRE; BONFANTE, 1998). É necessário ressaltar que em um trabalho realizado por Gutjahr et al. (2015) em arroz, foi demonstrado que o AJ não foi algo necessário na colonização das raízes por FMA e que ele até torna-se prejudicial nessa simbiose, se estiver em concentrações altas, pois provavelmente induzem uma maior defesa das plantas.

Por outro lado, o AS mostrou ter possíveis efeitos negativos na colonização micorrízica em raízes de ervilha, onde níveis altos desse hormônio foram associados a baixa associação de micorrizas arbusculares (MA) (BLILOU; OCAMPO; GARCÍA-GARRIDO, 1999). Em outro estudo feito com plantas de tabaco, utilizando dois tratamentos diferentes, sendo um para melhorar a produção de AS e o outro para reduzir, verificou-se no início que nas plantas onde foi mitigada a concentração do hormônio em questão, o grau de colonização de FMA, em termos de unidades de infecção e arbúsculos, foi bem maior quando comparado ao outro tratamento. Todavia é preciso ressaltar que níveis elevados de AS prorrogam o grau máximo de colonização, mas não afetam a capacidade máxima, pois no final do experimento verificou-se semelhança entre os mesmos (HERRERA- MEDINA et al., 2003).

#### *2.1.5 FPCV e fitorremediação de solos contaminados com metais pesados*

Os microrganismos do solo podem modificar os metais pesados de diferentes formas, seja alterando sua toxicidade, mobilidade e solubilidade (GADD, 2010). No entanto, é necessário destacar que diversos fatores influenciam na interação de microrganismos com metais pesados, como, por exemplo, a concentração dos contaminantes em questão e natureza físico-química do solo.

Para que ocorra a retirada pelas plantas, os íons metálicos precisam estar na solução do solo. Porém, a disponibilidade desses metais pode reduzir a eficiência da fitorremediação devido ao aumento da toxicidade, que conseqüentemente inibe o crescimento dos vegetais. Nesse contexto, os microrganismos da rizosfera, incluindo os FPCV (OGGERIN et al., 2013), têm o potencial de melhorarem a fitorremediação das seguintes formas: melhorando o crescimento das plantas e aumentando a disponibilidade dos metais pelo fato de alterarem as propriedades físico-químicas do solo, utilizando processos como a acidificação, complexação, precipitação e reações redox (MISHRA; SINGH; ARORA, 2017), aumentar o sistema radicular das plantas (JABER; ENKERLI, 2016) e colaborar com o menor estresse fisiológico das plantas devido a manutenção do fotossistema II das folhas.

Quando em solo com pH ácido, a adsorção e o aumento da biodisponibilidade dos metais para as plantas são favorecidos (MERDY; GHARBI; LUCAS, 2009). Do mesmo modo, a adsorção é dependente da liberação de ácidos orgânicos por microrganismos da rizosfera. Além disso, foi relatado que FPCV da rizosfera podem aumentar a biodisponibilidade dos íons metálicos para as plantas: o fungo *Beauveria* mostrou sintetizar ácidos orgânicos, promovendo a solubilização de cádmio, cobre, chumbo e zinco (FOMINA et al., 2005).

## **2.2 Biochar**

### *2.2.1 Produção e características*

Biochar é um produto da pirólise de matéria-prima a elevadas temperaturas (300-700° C) na ausência de oxigênio, que apresenta elevado teor de carbono estável (70-80 %), sendo resistente à decomposição microbiana (LEHMANN; JOSEPH, 2009). O interesse pela sua utilização iniciou a partir de observações feitas nos solos de terra preta localizados na Amazônia, que apresentam níveis de fertilidade superiores quando comparados a solos próximos, que não receberam adição de Carbono orgânico (RENNER, 2007).

O material apresenta elevada área superficial, uma excelente porosidade (DOWNIE; CROSKY; MUNROE, 2009), além de apresentar a capacidade de adsorver compostos de carga negativa ou positiva, podendo apresentar carga superficial líquida, positiva ou negativa, promovendo uma possível redução na lixiviação de contaminantes e nutrientes (LEHMANN et al., 2003) e potencializado a adsorção de tais (CHENG et al., 2008). Os processos de adsorção-dessorção, precipitação-solubilização, ácido-base e reações redox, foram sugeridos por Joseph et al. (2010) quando o biochar é adicionado ao solo. O tipo e a taxa das interações dependem de diversos fatores, tais como: fração mineral do biochar, condições de pirólise, granulometria das partículas, propriedades do solo e condições do ambiente (temperatura, umidade) (KUZUYAKOV et al., 2009).

Quando a temperatura de pirólise é mais baixa, o biochar apresenta maior reatividade nos solos por possuir uma estrutura menos condensada do carbono, além de contribuir mais com a fertilidade do solo, por apresentar maior teor de nutrientes, quando comparado com um biochar produzido a altas temperaturas (STEINBEISS; GLEIXNER; ANTONIETTI, 2009). Tal material proporciona o aumento da disponibilidade de nutrientes basicamente por três formas: presença de nutrientes intrínsecos ao produto, vinculado ao tipo de matéria-prima utilizada na sua produção e temperatura de pirólise, ao maior impedimento contra a lixiviação dos nutrientes

já existentes no solo (LEHMANN et al., 2003) e também a uma possível alteração na dinâmica dos microrganismos do solo, relacionados aos ciclos dos nutrientes (LEHMANN; RONDON, 2006).

De acordo com Joseph et al. (2010), após um curto período em que o biochar é acrescentado ao solo, as interações entre o biochar, microrganismos, solo e raízes das plantas começam a acontecer. O biochar quando adicionado ao solo pode influenciar na diversidade e quantidade de microrganismos do solo por meio da liberação de compostos orgânicos responsáveis pelo crescimento microbiano (GRABER et al., 2010), pela retenção de nutrientes presentes no solo (CORNELISSEN et al., 2005) e por servir de microhabitat para eles (WARDLE; NILSSON; ZACKRISSON, 2008). No entanto, essas atribuições dependem da matéria orgânica pirolisada, por exemplo, biochar produzido a partir de material lenhoso apresenta elevada área de superfície e alta porosidade, servindo assim como local de estadia para os microrganismos do solo (GRABER et al., 2010).

Outra forma da matéria pirolisada colaborar com o aumento da biomassa microbiana no solo é por meio do processo de adsorção de compostos tóxicos no solo, como o catecol, pois na presença dessas substâncias o crescimento microbiano é afetado negativamente (CHEN et al., 2009). A grande questão é que, além da adsorção dessas substâncias prejudiciais ao desenvolvimento da comunidade de micróbios do solo, também podem ser sorvidos compostos de sinalização como os flavonoides de leguminosas, criando barreiras para a formação de nódulos (associação simbiótica entre leguminosas e bactérias do tipo rizóbio) e de flavonoides dos fungos micorrízicos arbusculares. Outro problema enfrentado, dentro desse contexto, é que os compostos tóxicos podem retornar ao ambiente por meio da lixiviação, após o envelhecimento do biochar (LONE et al., 2015).

### *2.2.2 Efeitos do biochar no solo e promoção do crescimento vegetal*

Os possíveis benefícios de adição de biochar no solo são o aumento de carbono oxidável, minimização da emissão de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) em solos agrícolas, promoção do estímulo da atividade microbiana presente no solo, capacidade de sorção de pesticidas e nutrientes (minimizando a posterior lixiviação dos mesmos), melhoria na agregação com consequente aumento na retenção da umidade do solo, e controle de doenças (LONE et al., 2015). Além disso, ele pode ser usado no solo para promover o crescimento das plantas, pelo fato de promover a fertilização do solo e influenciar no aumento da diversidade de microrganismos do solo (SOLAIMAN et al., 2010). Segundo Blackwell et al. (2010) culturas onde são

adicionados biochar ao solo, apresentam melhora no rendimento com uma baixa aplicação de fertilizantes.

A capacidade desse produto em aumentar a produtividade de solos com pH abaixo de 7,0 está correlacionado com a melhoria na nutrição das plantas, retenção de umidade e estimulação da atividade dos microrganismos do solo. Como exemplo, verificou-se um maior rendimento da cultura de trigo, em termos de biomassa seca e fresca, quando foi adicionado biochar em consórcio com a aplicação de fertilizante (BLACKWELL et al., 2015). Foi verificada melhor eficiência no uso do fertilizante, ou seja, quando se adicionou a matéria orgânica, que sofreu pirólise, ao solo, se utilizou menos fertilizante para produção de trigo quando comparado ao controle. Esse fato pode estar relacionado com a maior colonização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) nas raízes. Da mesma forma, a adição de biochar ao solo resultou em mudanças benéficas para as plantas, como a melhora significativa do sistema radicular, em termos de comprimento e massa (BRENNAN et al., 2014).

### *2.2.3 Biochar e metais pesados*

Solos contaminados com diferentes contaminantes (metais pesados, metaloides e orgânicos) apresentam um nível de dificuldade grande de serem remediados, pois cada tipo de contaminante pode exigir um tipo de tratamento específico (SNEATH; HUTCHINGS; DE LEIJ, 2013). Entretanto, o biochar por meio de suas propriedades, pode imobilizar metais pesados por meio de interações eletrostáticas, adsorção superficial e precipitação, e contaminantes orgânicos por meio de partição e sequestro (ZHANG X et al., 2013), além de servirem de habitat para microrganismos com capacidade de degradarem compostos orgânicos.

Precipitação e adsorção específica, consideradas como adsorção não eletrostática, e a adsorção eletrostática são os principais mecanismos do biochar que contribuem para adsorção de metais pesados (TONG et al., 2011). A grande quantidade de grupos funcionais ácidos no biochar gera cargas negativas em sua superfície e proporcionando uma excelente capacidade de troca de cátions (JIANG et al., 2012).

Em um experimento em que foram avaliadas diferentes temperaturas de pirólise (200, 400, 500, 600 °C) na produção de biochar a partir de palha de arroz, foram observados que nas temperaturas 200 e 400 °C as adsorções de  $\text{Cu}^{2+}$  eram superiores. A redução na capacidade de adsorção do biochar, com o progressivo aumento da temperatura de pirólise, foi explicada pelo fato de que, apesar do progressivo incremento da quantidade de cargas negativas na superfície

da matéria orgânica pirolisada com o aumento da temperatura, o teor de cátions  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{K}^+$  competem pelos sítios de adsorção (JIANG et al., 2015).

## **2.3 Remediação de solos contaminados com metais pesados**

### *2.3.1 Contaminação por metais pesados*

Os metais pesados têm se acumulado em diferentes locais no planeta devido à mineração, galvanoplastia, aplicação recorrente de alguns pesticidas, tráfego de automóveis, aplicação de fertilizantes, lodo de esgoto, dejetos de animais, que são fontes antropogênicas (WUANA; OKIEIMEN, 2011). Fontes naturais como meteorização de minerais, atividade vulcânica e erosão, também contribuem com a contaminação do ambiente por metais pesados, contudo com um menor poderio, quando comparadas as antropogênicas (DIXIT et al., 2015). Os metais não são degradáveis e se acumulam no ambiente, diferentemente das substâncias orgânicas (PAZ-FERREIRO et al., 2014).

Os metais pesados presentes no solo impactam as propriedades do solo (YANG et al., 2012) e também a diversidade e biomassa da comunidade microbiana (VACCA et al., 2012). A poluição por metais pesados, até mesmo em baixas concentrações, afeta a capacidade produtiva dos solos, a biota do ecossistema, a qualidade da água e traz riscos à saúde humana e animal (ALI; KHAN; SAJAD, 2013). Esse tipo de poluição, além de representar significativo risco para os ecossistemas, também pode ser uma ameaça para a saúde humana por causa da biomagnificação na cadeia alimentar (ROY; MCDONALD, 2014).

Baseado nos fatos citados anteriormente, se torna evidente a necessidade de adotar medidas que possibilite a remediação de ambientes contaminados por metais pesados. A remediação de um solo contaminado é determinada como sendo a capacidade de estabelecer plantas no ambiente que existiam antes da perturbação ou que suportem as condições associado ao retorno da condição de estabilidade ecológica (ALLEN, 1998). Existem diversos processos físico-químicos que podem ser utilizados na remoção dos contaminantes em questão, como a vitrificação *in situ*, solidificação, lavagem do solo (WUANA; OKIEIMEN, 2011; ALI; KHAN; SAJAD, 2013), porém, além do alto custo, essas técnicas podem trazer efeitos negativos para propriedades e biodiversidade do solo (THAKUR et al., 2016), sendo que os métodos químicos podem gerar subprodutos que causem prejuízos ao meio (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; FOMINA; GADD, 2014). Grande parte das técnicas convencionais, em concentrações de metais abaixo de 100 mg/L, apresentam baixíssima eficiência de remoção. Como alternativa

atraente aos métodos físico-químicos, os métodos biológicos, como a biossorção e/ou bioacumulação, são propostos (KAPOOR; VIRARAGHVAN, 1995).

### *2.3.2 Fitorremediação de metais pesados*

Uma das alternativas para recuperação de contaminação de solos por metais pesados pode ser realizada por meio de extração por plantas, chamada de fitorremediação (CHERIAN; OLIVEIRA, 2005). É considerada técnica comercialmente promissora de remedição (SUN et al., 2011). Fitoestabilização, fitoacumulação, fitovolatilização e rizofiltração são os mecanismos relacionados dentro dessa técnica de remediação, para a retirada dos contaminantes em diferentes locais (THAKUR et al., 2016).

O crescente interesse nessa tecnologia de remediação está relacionado com o baixo custo de implementação e impacto causado no ambiente (CUNNINGHAM; OW, 1996). Na fitorremediação ocorre a absorção de íons metálicos pelas raízes das plantas e a posterior translocação para a parte aérea, onde eles se acumulam. Após a acumulação, associado ao suficiente crescimento da planta, a parte aérea é recolhida, promovendo assim a remoção dos metais do local (JADIA; FULEKAR, 2009).

Fatores como a biodisponibilidade dos metais pesados no solo, propriedades do solo, espécies das plantas e qual a formação dos metais (especiação) influencia na capacidade de remediação por meio da técnica de fitoextração (ALI; KHAN; SAJAD, 2013). Para que a fitoextração apresente a máxima eficiência possível, as plantas precisam apresentar características específicas, tais como: elevada taxa de crescimento; capacidade de produzir grandes quantidades de biomassa acima do solo; um sistema radicular profundo, distribuído e bem ramificado; acumular grandes quantidades de metais alvos em seus tecidos; habilidade para translocarem os metais das raízes para a parte aérea; flexibilidade aos efeitos tóxicos dos íons metálicos absorvidos; boa resiliência as condições climáticas e ambientais; mecanismos de resistência a pragas e repulsão a herbívoros (evitar contaminação da cadeia alimentar); e facilidade no plantio e na colheita (SHABANI; SAYADI, 2012).

Como toda tecnologia, a fitorremediação também apresenta desvantagens, sendo essas: a planta deve apresentar capacidade de crescimento em solos contaminados; o raio de remedição limita-se ao alcance dos sistema radicular, sendo que os contaminantes devem estar na solução do solo para ocorrer tal processo; é uma tecnologia morosa, ou seja, leva-se anos para o solo tornar-se reutilizável; variações ambientais; a introdução de espécies não nativas

pode acarretar em um desequilíbrio ecológico; e pode ser o ponto de partida da contaminação da cadeia alimentar devido a ação de herbívoros (GHOSH; SINGH, 2005).

Portanto, o ponto chave para o sucesso da fitorremediação está relacionado com a escolha adequada da planta a ser utilizada, pois ela deve apresentar características específicas, para o sucesso nesse tipo de remediação de solos (THAKUR et al., 2016).

### 2.3.3 Poder de acúmulo de metais pesados pelas plantas

Dentro das espécies de plantas existem algumas que são consideradas hiperacumuladoras, pelo fato de conseguirem absorver e acumular em seus tecidos uma quantidade muito maior de íons de metais pesados, em comparação com plantas ditas não acumuladoras, sem apresentar danos graves aos processos fisiológicos vitais e ao seu crescimento. O critério mais utilizado para determinação de plantas hiperacumuladoras é o definido por Baker e Brooks (1989), onde eles definem hiperacumuladores como espécies de plantas que concentram mais de  $100 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Cd ou de  $1000 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Ni, Cu e Pb ou de  $10000 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Zn e Mn em seus tecidos secos, quando as plantas em questão se desenvolvem em solos com grandes concentrações íons metálicos.

De todas as espécies de plantas conhecidas, cerca de 0,2 % são definidas como acumuladores de metais pesados (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). Existem descritas cerca de 400 espécies de planta com capacidade de acumular grandes concentrações de íons metálicos (LI et al., 2003), sendo que dentro da família *Brassicaceae* existem muitas espécies (PONIEDZIAŁEK et al., 2010). Tais plantas conseguem acumular de 50 a 100 vezes mais metais pesados em seus tecidos (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011; THAKUR et al., 2016), além de apresentarem uma excelente capacidade de translocação dos metais pesados para a biomassa acima do solo (fator de translocação  $> 1$ ) (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011) e de bioconcentrar os íons metálicos em seus tecidos vegetais. De acordo com Wu et al. (2011) a avaliação e seleção de uma planta para ser utilizada na fitorremediação de metais pesados fundamenta-se completamente na capacidade de translocação e bioconcentração dela. Uma explicação que justifique as plantas acumular grandes concentrações de metais pesados é a possível defesa contra patógenos e herbívoros, pelo fato das folhas tornarem tóxicas (DIPU; KUMAR; THANGA, 2012).

A quantificação da eficiência das plantas em retirar metais pesados do solo e acumulá-los é feita a partir do cálculo dos fatores de bioconcentração (FBC) e de translocação (FT). O primeiro indica a eficiência da planta de acumular íons metálicos em seus tecidos (LADISLAS



et al., 2012). O FT mostra a capacidade da planta em translocar o metal retido em suas raízes para a biomassa acima do solo, sendo calculado da seguinte fórmula (ZACCHINI et al., 2009).

Espécies de planta que apresentam FT E FBC superiores a 1 possuem capacidade de serem usadas na fitoextração de metais pesados do solo (YOON et al., 2006). A FBC é uma variável com mais notabilidade do que a concentração de metais na biomassa acima do solo quando se quer analisar o potencial de uma planta candidata a fitoextração (SAKAKIBARA et al., 2011).

Dificuldade em encontrar hiperacumuladores, crescimento lento e o menor rendimento de biomassa são as desvantagens que impedem o uso mais amplo de plantas hiperacumuladoras. Esses fatores tornam o uso dessa tecnologia mais restrita para ambientes que necessitam de rápida recuperação, pois é um processo bastante lento e demorado (XIAO et al., 2010). No entanto, a combinação de microrganismos rizosféricos com as plantas pode potencializar a eficiência da fitorremediação, pois podem auxiliar no crescimento das plantas e/ou influenciar na maior tolerância a exposição dos íons metálicos. Esses microrganismos podem incluir fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (DIXIT et al., 2015).

A acumulação em grande proporção e a excelente tolerância das plantas contra a toxicidade dos metais pesados é mais importante do que alta produção de biomassa, visto que o uso de hiperacumuladores irá facilitar na recuperação de um determinado metal e na disposição final segura da biomassa produzida, pois é produzido um baixo volume de biomassa. ALI; KHAN; SAJAD, 2013).

## REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, M. et al. Dissection of *Trichoderma longibrachiatum*-induced defense in onion (*Allium cepa* L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa* by target metabolite profiling. **Plant science**, Limerick, v. 246, n. p. 128-138, Mar. 2016. DOI: [10.1016/j.plantsci.2016.02.008](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.02.008).
- AHMAD, P. et al. Role of transgenic plants in agriculture and biopharming. **Biotechnology advances**, Amsterdam, v. 30, n. 3 p. 524-540, May/June 2012. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2011.09.006](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.09.006).
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 91, n. 7, p. 869-881, May 2013. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2013.01.075](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075).
- BAKER, A. J. M.; BROOKS, R. R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements, a review of their distribution, ecology and Phytochemistry. In: **Biorecovery**, v. 1, p. 81-126, 1989. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/247713966\\_Terrestrial\\_Higher\\_Plants\\_Which\\_Hyperaccumulate\\_Metallic\\_Elements\\_A\\_Review\\_of\\_Their\\_Distribution\\_E](https://www.researchgate.net/publication/247713966_Terrestrial_Higher_Plants_Which_Hyperaccumulate_Metallic_Elements_A_Review_of_Their_Distribution_E). Acesso em: 12 Dez. 2017.
- BALLARÉ, C. L. Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. **Trends in plant science**, Cambridge, MA, v. 16, n. 5, p. 249-257, May 2011. DOI: [10.1016/j.tplants.2010.12.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.12.001).
- BARELLI, L. et al. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. **Plant molecular biology**, Dordrecht, v. 90, n. 6, p. 657-664, Apr. 2016. DOI: [10.1007/s11103-015-0413-z](https://doi.org/10.1007/s11103-015-0413-z).
- BEHIE, S. W.; BIDOCHKA, M. J. Ubiquity of insect-derived nitrogen transfer to plants by endophytic insect-pathogenic fungi: an additional branch of the soil nitrogen cycle. **Applied and environmental microbiology**, Washington, DC, v. 80, n. 5, p. 1.553-1.560, Mar. 2014. DOI: [10.1128/AEM.03338-13](https://doi.org/10.1128/AEM.03338-13).
- BLACKWELL, P. et al. Effect of banded biochar on dryland wheat production and fertiliser use in south-western Australia: an agronomic and economic perspective. **Australian journal soil research**, Melbourne, v. 48, n. 7, p. 531-545, Sept. 2010. DOI: [10.1071/SR10014](https://doi.org/10.1071/SR10014).
- \_\_\_\_\_. Influences of biochar and biochar-mineral complex on mycorrhizal colonisation and nutrition of wheat and sorghum. **Pedosphere**, Nanjing, v. 25, n. 5, p. 686-695, Oct. 2015. DOI: [10.1016/S1002-0160\(15\)30049-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)30049-7).
- BLILOU, I.; OCAMPO, J. A.; GARCÍA-GARRIDO, J. M. Resistance of pea roots to endomycorrhizal fungus or *Rhizobium* correlates with enhanced levels of endogenous salicylic acid. **Journal of experimental botany**, Oxford, v. 50, n. 340, p. 1663-1668, Nov. 1999. DOI: [10.1093/jxb/50.340.1663](https://doi.org/10.1093/jxb/50.340.1663).

- BROTMAN, Y. et al. Transcript and metabolite analysis of the Trichoderma-induced systemic resistance response to *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis thaliana*. **Microbiology**, London, UK, v. 158, p. 139-146. DOI: [10.1099/mic.0.052621-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.052621-0).
- CAVELLO, I. A. et al. Plant growth promotion activity of Keratinolytic Fungi growing on a recalcitrant waste known as (hair waste). **Biotechnology research international**, New York, v. 2015, p. 1-10, Nov. 2015. DOI: [10.1155/2015/952921](https://doi.org/10.1155/2015/952921).
- CHEN, H. L. et al. Study on the toxic effects of diphenol compounds on soil microbial activity by a combination of methods. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v. 167, n. 1-3, p. 846-851. Aug. 2009. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2009.01.066](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.066).
- CHENG, C. et al. Stability of black carbon in soils across a climatic gradient. **Journal of geophysical Research**, Washington, DC, v. 113, p. 1-10, June 2008. DOI: [10.1029/2007JG000642](https://doi.org/10.1029/2007JG000642).
- CHERIAN, S.; OLIVEIRA, M. M. Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. **Environmental science & technology**, Washington, DC, v. 39, n. 24, p. 9.377-9.390, Dec. 2005. DOI: [10.1021/es051134l](https://doi.org/10.1021/es051134l).
- CONRATH, U. et al. Priming: getting ready for battle. **Molecular plant-microbe interactions**, Saint Paul, v. 19, n. 10, 1.062-1.071, Oct. 2006. DOI: [10.1094/MPMI-19-1062](https://doi.org/10.1094/MPMI-19-1062).
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. Trichoderma-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. **Plant signal & behavior**, Abington-on-Thames, v. 6, n. 10, p. 1.554-1.563, Oct. 2011. DOI: [10.4161/psb.6.10.17443](https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17443).
- CORNELISSEN, G. et al. Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation. **Environmental science & technology**, Washington, DC, v. 39, n. 18, p. 6.881-6.895, Sept. 2005. DOI: [10.1021/es050191b](https://doi.org/10.1021/es050191b).
- CUNNINGHAM, S. D.; OW, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. **Plant physiology**, Rockville, v. 110, n. 3, p. 715-719, Mar. 1996. DOI: [10.1104/pp.110.3.715](https://doi.org/10.1104/pp.110.3.715).
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). **Journal of food agriculture and environment**, Helsinki, v. 9, n. 3-4, p. 561-563, Oct. 2011. DOI: [10.1234/4.2011.2333](https://doi.org/10.1234/4.2011.2333).
- DIPU, S.; KUMAR, A. A; THANGA, S. G. Effect of chelating agents in phytoremediation of heavy metals. **Remediation journal**, Hoboken, v. 22, n. 2, p. 133-146, Mar. 2012. DOI: [10.1002/rem.21304](https://doi.org/10.1002/rem.21304).
- DIXIT, R. et al. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. **Sustainability**, Basel, v. 7, n. 2, p. 2.189-2.212, Feb. 2015. DOI: [10.3390/su7022189](https://doi.org/10.3390/su7022189).

DUBEY, R. K. et al. Exploring rhizospheric interactions for agricultural sustainability: the need of integrative research on multi-trophic interactions. **Journal of cleaner production**, Amsterdam, v. 115, p. 362-365, Mar. 2016. DOI: [10.1016/j.jclepro.2015.12.077](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.12.077)

ESCUDERO, N.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Symbiosis**, Amsterdam, v. 57, n. 1, p. 33-42, May 2012. DOI: [10.1007/s13199-012-0173-3](https://doi.org/10.1007/s13199-012-0173-3).

\_\_\_\_\_; et al. Chitosan enhances parasitism of *Meloidogyne javanica* eggs by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal biology**, London, UK v. 120, n. 4, p. 572-585, Apr. 2016. DOI: [10.1016/j.funbio.2015.12.005](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.12.005).

FAOSTAT. Database collection of the Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2011. [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org). Available from: [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org).

FOMINA, M. et al. Role of oxalic acid overexcretion in transformations of toxic metal minerals by *Beauveria caledonica*. **Applied environmental microbiology**, Washington, DC, v. 71, n. 1, p. 371-381, Jan. 2005. DOI: [10.1128/aem.71.1.371-381.2005](https://doi.org/10.1128/aem.71.1.371-381.2005).

\_\_\_\_\_; GADD, G. M. Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. **Bioresource technology**, Amsterdam, v. 160, p. 3-14, May 2014. DOI: [10.1016/j.biortech.2013.12.102](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.102).

FRACETTO, G. G. M. et al. Tomato ethylene mutants exhibit differences in arbuscular mycorrhiza development and levels of plant defenserelated transcripts. **Symbiosis**, Dordrecht, v. 60, p. 155-167, Feb. 2017. DOI: [10.1007/s13199-013-0251-1](https://doi.org/10.1007/s13199-013-0251-1).

GADD, G. M. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. **Microbiology**, London, UK, v. 156, p. 609-643, Mar. 2010. DOI: [10.1099/mic.0.037143-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.037143-0).

GENRE, A.; BONFANTE, P. Actin versus tubulin configuration in arbuscule-containing cells from mycorrhizal tobacco roots. **New phytologist**, Hoboken, v. 140, n. 4, p. 745-752, Dec. 1998. DOI: [10.1046/j.1469-8137.1998.00314.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00314.x).

GHOSH, M.; SINGH, S. P. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of it's by products. **Asian journal energy environment**, Bangkok, v. 6, n. 4, p. 214-231, Oct. 2005. ISSN: 1513-4121.

GIBSON, D. M. et al. Discovering the secondary metabolite potential encoded within entomopathogenic fungi. **Natural product reports**, London, UK, v. 31, n. 10, p. 1.287-1.305, Aug. 2014. DOI: [10.1039/c4np00054d](https://doi.org/10.1039/c4np00054d).

GRABER, E. et al. Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media. **Plant soil**, Paranaque, v. 337, n. 1-2, p. 481-496, Dec. 2010. DOI: [10.1007/s11104-010-0544-6](https://doi.org/10.1007/s11104-010-0544-6).

GUTJAHR, C. et al. Full establishment of arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice occurs independently of enzymatic jasmonate biosynthesis. **Plos one**, San Francisco, v. 10, n. 4. p. 19-42, Apr. 2015. DOI: [10.1371/journal.pone.0123422](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123422).

HAN, Y. et al. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas stutzeri* a1501 facilitates the growth of rice in the presence of salt or heavy metals. **Journal of microbiology and biotechnology**, Seoul, v. 25-27, p. 1.119-1.128, Mar. 2015. DOI: [10.4014/jmb.1412.12053](https://doi.org/10.4014/jmb.1412.12053).

HARRISON, M. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, Palo alto, v. 50, p. 361-389, June 1999. DOI: [10.1146/annurev.arplant.50.1.361](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.361).

HAUSE, B. et al. Jasmonates in arbuscular mycorrhizal interactions. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 8, n. 1, p. 101-110, Jan. 2007. DOI: [10.1016/j.phytochem.2006.09.025](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.09.025).

HERMOSA, R. et al. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International microbiology**, Madrid, v. 16, p. 69-80, June 2013. DOI: [10.2436/20.1501.01.181](https://doi.org/10.2436/20.1501.01.181).

HERRERA-MEDINA, M. J. et al. Root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi is affected by the salicylic acid content of the plant. **Plant science**, Limerick, v. 164, n. 6, p. 993-998, June 2003. DOI: [10.1016/S0168-9452\(03\)00083-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00083-9).

\_\_\_\_\_. Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. **New phytologist**, Hoboken, v. 175, p. 554-564. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2007.02107.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02107.x).

HU, G.; ST. LEGER, R. J. Field studies using a recombinant mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent. **Applied environmental microbiology**, Washington, DC, v. 68, n. 12, p. 6.383-6.387, Dec. 2002. DOI: [10.1128/AEM.68.12.6383-6387.2002](https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6383-6387.2002).

ISAYENKOV, S. et al. Suppression of allene oxide cyclase in hairy roots of *Medicago truncatula* reduces jasmonate levels and the degree of mycorrhization with *Glomus intraradices*. **Plant physiology**, Rockville, v. 139, n. 3, p. 1.401-1.410, Nov. 2005. DOI: [10.1104/pp.105.069054](https://doi.org/10.1104/pp.105.069054).

JABER, L. R.; ENKERLI, J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biological control**, New York, v. 103, p. 187-195, Dec. 2016. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2016.09.008](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008).

JADIA, C. D; FULEKAR, M. H. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. **African journal of biotechnology**, Lagos, v. 8, n. 6, p. 921-928, Mar. 2009. DOI: [10.5897/AJB2009.000-9152](https://doi.org/10.5897/AJB2009.000-9152).

JIANG, T. et al. Adsorption of Pb(II) on variable charge soils amended with rice-straw derived biochar. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 89, n. 3, p. 249-256, Sept. 2012. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2012.04.028](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.028).

\_\_\_\_\_. Rice straw-derived biochar properties and functions as Cu(II) and Cyromazine sorbents as influenced by pyrolysis temperature. **Pedosphere**, Nanjing, v. 25, n. 5, p. 781-789, Oct. 2015. DOI: [10.1016/S1002-0160\(15\)30059-X](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)30059-X).

JOSEPH, S. D. et al. An investigation into the reactions of biochar in soil. **Australian journal of soil research**, Melbourne, v. 48, n. 7, p. 501-515, Jan. 2010. DOI: 10.1071/SR10009.

JUNG, S. C. et al. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. **Journal of chemical ecology**, New York, v. 38, n. 6, p. 651-664, June 2012. DOI: [10.1007/s10886-012-0134-6](https://doi.org/10.1007/s10886-012-0134-6).

KAPOOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Biosorption of heavy metals on *Aspergillus Niger*. Effect of pretreatment. **Bioresource technology**, Amsterdam, v. 63, n. 2, p. 109-113, Feb. 1998. DOI: [10.1016/S0960-8524\(97\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00118-1).

KUZYAKOV, Y. et al. Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by <sup>14</sup>C labeling. **Soil biology biochemistry**, Amsterdam, v. 41, n. 2, p. 210-219, Feb. 2009. DOI: [10.1016/j.soilbio.2008.10.016](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.10.016).

LACEY, L. et al. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of invertebrate pathology**, Amsterdam, v. 132, p. 1-41, Nov. 2015. DOI: [10.1016/j.jip.2015.07.009](https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009).

LADISLAS, S. et al. Potential of aquatic macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution in urban stormwater runoff. **Water, air & soil pollution**, Dordrecht, v. 223, n. 2, p. 877-888, Feb. 2012. DOI: 10.1007/s11270-011-0909-3.

LEHMANN, J. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments. **Plant soil**, Paranaque, v. 249, n. 2, p. 343-357, Feb. 2003. DOI: 10.1023/A:1022833116184.

\_\_\_\_\_; RONDON, M. Bio-Char soil management on highly weathered soils in the humid tropics. In: UPHOFF, N. et al. (Ed.) **Biological approaches to sustainable soil systems**. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 518-530. ISBN: 9781574445831.

\_\_\_\_\_; JOSEPH, S. Biochar for environmental management: an introduction. In: \_\_\_\_\_ (Ed.). **Biochar for environmental management: science and technology**. London, UK: Earthscan, 2009. p. 1-12. ISBN: 978-1844076581.

LI, Y. M. et al. Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. **Plant soil**, Paranaque, v. 249, n. 1, p. 107-115, Feb. 2003. DOI: 10.1023/A:1022527330401.

LIAO, X. et al. Overexpression of a *Metarhizium robertsii* HSP25 gene increases thermotolerance and survival in soil. **Applied microbiology and biotechnology**, Paranaque, v. 98, n. 2, p. 777-783, Jan. 2014. DOI: 10.1007/s00253-013-5360-5.

LONE, A. H. et al. Biochar for sustainable soil health: a review of prospects and concerns. **Pedosphere**, Nanjing, v. 25, n. 5, p. 639-653, Oct. 2015. DOI: [10.1016/S1002-0160\(15\)30045-X](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)30045-X).

LOPEZ-LLORCA, L. V. et al. Nematophagous fungi as root endophytes. In: SCHULZ, B. J. E.; BOYLE, C. J. C.; SIEBER, T. N. (Ed.). **Microbial root endophytes**. Berlin: Springer-Verlag, p. 191-206. 2006. DOI: 10.1007/3-540-33526-9\_11.

LOPEZ, D. C.; SWORD, G. A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological control**, New York, v. 89, p. 53-60, Oct. 2015. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2015.03.010](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.010).

LORITO, M. et al. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. **Annual review of phytopathology**, Palo Alto, v. 48, n. 1, p. 395-417, May 2010. DOI: [10.1146/annurev-phyto-073009-114314](https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314).

MACIÁ-VICENTE, J. G. et al. Real-time PCR quantification and live-cell imaging of endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*. **New phytologist**, Hoboken, v. 182, n. 1, p. 213-228, Mar. 2009a. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2008.02743.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02743.x).

\_\_\_\_\_. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. **Annals of applied biology**, Warwick, v. 155, n. 3, p. 391-401, Dec. 2009b. DOI: [10.1111/j.1744-7348.2009.00352.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00352.x).

MANNION, A. M; MORSE, S. Biotechnology in agriculture: agronomic and environmental considerations and reflections based on 15 years of GM crops. **Progress in physical geography: earth and environment**, Reading, v. 36, v. 6, p. 747-763, Aug. 2012. DOI: [10.1177/0309133312457109](https://doi.org/10.1177/0309133312457109).

MARTÍNEZ-MEDINA, A. et al. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 72, n. 2-3, p. 223-229, Feb. 2011. DOI: [10.1016/j.phytochem.2010.11.008](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.008).

\_\_\_\_\_. Phytohormone Profiles induced by trichoderma isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of chemical ecology**, New York, v. 40, n. 7, p. 804-815, July 2014. DOI: [10.1007/s10886-014-0478-1](https://doi.org/10.1007/s10886-014-0478-1).

MARRI, D. et al. Evaluation of the efficacy of a commercial formulation of *Beauveria bassiana* for the control of the invasive fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). **Biopesticides international**, v. 12, n. 1, p. 9-18, 2016. ISSN: 0973-483X.

MATSUKI, T. et al. The influences of jasmonic acid methyl ester on microtubules in potato cells and formation of potato tubers. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, London, UK, v. 56, n. 8, p. 1.329-1.330, Feb. 1992. DOI: [10.1271/bbb.56.1329](https://doi.org/10.1271/bbb.56.1329).

MERDY, P.; GHARBI, L. T.; LUCAS, Y. Pb, Cu and Cr interactions with soil: sorption experiments and modelling. **Colloids and surfaces A: physicochemical and engineering**



aspects, Amsterdam, v. 347, n. 1-3, p. 192-199, Sept. 2009. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2009.04.004.

MISHRA, J.; SINGH, R.; ARORA, N. K. Alleviation of heavy metal stress in plants and remediation of soil by rhizosphere microorganisms. **Frontiers in microbiology**, Bethesda, v. 8, n. 1.706, Sept. 2017. DOI: [10.3389/fmicb.2017.01706](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01706). Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5592232/>>. Acesso em: 03 Jan. 2018.

NIU, X. et al. Nematode toxic aurovertin-type metabolites from a rook-knot nematode parasitic fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, DC, v. 58, n. 2, p. 828-834, Dec. 2010. DOI: [10.1021/jf903259n](https://doi.org/10.1021/jf903259n).

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. In: **ENCYCLOPEDIA of life sciences**. Hoboken: John Wiley and Sons, 2006. p. 1-11. DOI: [10.1038/npg.els.0004293](https://doi.org/10.1038/npg.els.0004293).

OGGERIN, M. et al. Specific jarosite biomineralization by *Purpureocillium lilacinum*, an acidophilic fungi isolated from Rio Tinto. **Environmental microbiology**, Washington, DC, v. 15, n. 8, p. 2.228-2.237, Jan. 2013. DOI: [10.1111/1462-2920.12094](https://doi.org/10.1111/1462-2920.12094).

PARMESAN, C.; YOHE, G. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. **Nature: international journal of science**, Basingstoke, v. 421, p. 37-42, Jan. 2003. DOI: 10.1038/nature01286.

PAZ-FERREIRO, J. et al. Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review. **Solid earth**, Gotinga, v. 5, p. 65-75, Feb. 2014. DOI: 10.5194/se-5-65-2014.

PINGALI, P. Green revolution: impacts, limits, and the path ahead. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Cambridge, MA, v. 109, n. 31, p. 12.302-12.308, July 2012. DOI: [10.1073/pnas.0912953109](https://doi.org/10.1073/pnas.0912953109).

PONIEDZIAŁEK, M. et al. Phytoremediation efficiency of crop plants in removing cadmium, lead and zinc from soil. **Folia Horticulturae: the journal of Polish Society for Horticultural Sciences**, Berlin, v. 22, n. 2, p. 25-31, Aug. 2010. DOI: [10.2478/fhort-2013-0155](https://doi.org/10.2478/fhort-2013-0155).

QUESADA-MORAGA, E.; LÓPEZ-DÍAZ, C.; LANDA, B. B. The hidden habit of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: first demonstration of vertical plant transmission. **Plos one**, San Francisco, v. 9, n. 2, p. 1-6, Feb. 2014. DOI: [10.1371/journal.pone.0089278](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089278)

RAGHAVENDRA, A. S. et al. ABA perception and signalling. **Trends in plant science**, London, UK, v. 15, n. 7, p. 395-401, July 2010. DOI: [10.1016/j.tplants.2010.04.006](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.04.006).

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting?. **Plant science**, Limerick, v. 180, n. 2, p. 169-181, Feb. 2011. DOI: [10.1016/j.plantsci.2010.08.016](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016).



RENNER, R. Rethinking biochar. **Environmental science & technology**, Washington, DC, v. 41, n. 17, p. 5.932-5.933, Sept. 2007. DOI: 10.1021/es0726097.

RILLIG, M. C.; MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. **New phytologist**, Hoboken, v. 171, n. 1, p. 41-53, May 2006. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x).

ROY, M.; MCDONALD, L. M. Metal uptake in plants and health risk assessments in metal-contaminated smelter soils. **Land degradation & development**, Hoboken, v. 26, n. 8, p. 785-792, Nov. 2015. DOI:10.1002/ldr.2237.

SAKAKIBARA, M. et al. Phytoremediation of heavy metal contaminated water and sediment by *Eleocharis acicularis*. **Clean: soil, air, water**, Weinheim, v. 39, n. 8, p. 735-741, Aug. 2011. DOI: [10.1002/clen.201000488](https://doi.org/10.1002/clen.201000488).

SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. **American journal of botany**, St. Louis, v. 99, n. 1, p. 101-107, Jan. 2012. DOI: [10.3732/ajb.1100136](https://doi.org/10.3732/ajb.1100136).

SCHÄFER, P. et al. Manipulation of plant innate immunity and gibberellin as factor of compatibility in the mutualistic association of barley roots with *Piriformospora indica*. **The plant journal**, Oxford, v. 59, n. 3, p. 461-474, July 2009. DOI: [10.1111/j.1365-313X.2009.03887.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03887.x).

SHABANI, N.; SAYADI, M. H. Evaluation of heavy metals accumulation by two emergent macrophytes from the polluted soil: an experimental study. **Environmentalist**, New York, v. 32, n. 1, p. 91-98, Mar. 2012. DOI: 10.1007/s10669-011-9376-z.

SIMON, S.; PETRÁSEK, J. Why plants need more than one type of auxin. **Plant science**, Limerick, v. 180, n. 3, p. 454-460, Mar. 2011. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.12.007.

SMITH, S. E. et al. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. **Plant and soil**, Dordrecht, v. 326, n. 1-2, p. 3-20, Jan. 2010. DOI: 10.1007/s11104-009-9981-5.

SNEATH, H. E.; HUTCHINGS, T. R.; LEIJ, F. A. A. M. de. Assessment of biochar and iron filing amendments for the remediation of a metal, arsenic and phenanthrene co-contaminated spoil. **Environmental pollution**, Menai Bridge, v. 178, p. 361-366, July 2013. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.03.009.

SOLAIMAN, Z. M. et al. Direct and residual effect of biochar application on mycorrhizal root colonisation, growth and nutrition of wheat. **Australian journal of soil research**, Melbourne, v. 48, n. 7, p. 546-554, Sept. 2010. DOI: 10.1071/SR10002.

STEINBEISS, S.; GLEIXNER, G.; ANTONIETTI, M. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. **Soil biology and biochemistry**, Kidlington, v. 41, n. 6, p. 1.301-1.310, June 2009. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.03.016.

SUN, Y. et al. The role of EDTA on cadmium phytoextraction in a cadmium-hyperaccumulator *Rorippa globosa*. **Journal of environmental chemistry ecotoxicology**, Lagos, v. 3, n. 3, p. 45-51, Mar. 2011. ISSN: 2141-226X.

THAKUR, S.; SHARMA, S. S. Characterization of seed germination, seedling growth, and associated metabolic responses of Brassica juncea L. cultivars to elevated nickel concentrations. **Protoplasma**, Vienna, v. 253, n. 2, p. 571-580, Mar. 2015. DOI: 10.1007/s00709-015-0835-0.

\_\_\_\_\_ et al. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. **Environmental monitoring assessment**, Cham, p. 188-206, Mar. 2016. DOI: 10.1007/s10661-016-5211-9.

TOBIN, J. D. et al. Effect of the fungus Pochonia chlamydosporia and fosthiazate on the multiplication rate of potato cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) in potato crops grown under UK field conditions. **Biological control**, New York, v. 46, n. 2, p. 194-201, Ago. 2008. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.03.014.

TONG, X. J. et al. Adsorption of Cu (II) by biochars generated from three crop straws. **Chemical engineering journal**, v. 172, n. 2-3, p. 828-834, Aug. 2011. DOI: 10.1016/j.cej.2011.06.069.

VACCA, A. et al. Heavy metals in contaminated soils of the Rio Sitzzerri floodplain (Sardinia, Italy): Characterization and impact on pedodiversity. **Land degradation & development**, Hoboken, v. 23, p. 250-364, July/Aug. 2012. DOI: 10.1002/ldr.2153.

VITERBO, A. et al. Characterization of ACC deaminase from the biocontrol and plant growth-promoting agent *Trichoderma asperellum* T203. **FEMS microbiology letters**, Oxford, v. 305, n. 1, p. 42-48, Apr. 2010. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.01910.x.

WANG, C.; ST. LEGER, R. J. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. **Eukaryotic cell**, Rockville, v. 6, n. 5, p. 808-816, May. 2007. DOI: 10.1128/EC.00409-06.

WANG, Q.; XU, L. Beauvericin, a bioactive compound produced by fungi: a short review. **Molecules**, Beijing, v. 17, n. 3, p. 2.367-2.377, Feb. 2012. DOI: 10.3390/molecules17032367.

WARDLE, D. A.; NILSSON, M.; ZACKRISSON, O. Fire-derived charcoal causes loss of forest humus. **Science**, Washington, DC, v. 320, n. 5.876, p. 629, May 2008. DOI: 10.1126/science.1154960.

WORRALL, D. et al. Treating seeds with activators of plant defence generates long-lasting priming of resistance to pests and pathogens. **New phytologist**, Hoboken, v. 193, n. 3, p. 770-778, Dec. 2011. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.03987.x.

WU, Q. et al. Phytostabilization potential of *Jatropha curcas* L. in polymetallic acid mine tailings. **International journal of phytoremediation**, London, UK, v. 13, n. 8, p. 788-804, May 2011. DOI: 10.1080/15226514.2010.525562.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **International scholarly**

**research notices**, Cairo, v. 2011, Aug. 2011. DOI: 10.5402/2011/402647. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/isrn/2011/402647/>> Acesso em: 22 Nov. 2017.

XIAO, X. et al. Biosorption of cadmium by endophytic fungus (EF) *Microsphaeropsis* sp. LSE10 isolated from cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. **Bioresource technology**, Amsterdam, v. 101, n. 6, p. 1.668-1.674, Mar. 2010. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.09.083.

YANG, D. et al. Chemical and microbial properties in contaminated soils around a magnesite mine in Northeast China. **Land degradation & development**, Hoboken, v. 23, n. 3, p. 256-262, Jan. 2012. DOI: 10.1002/ldr.1077.

YOON, J. et al. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the total environment**, Amsterdam, v. 368, n. 1-3, p. 456-464, Set. 2006. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2006.01.016.

ZACCHINI, M. et al. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. **Water, air & soil pollution**, Dordrecht, v. 197, n. 1-4, p. 23-34, Feb. 2009. DOI: 10.1007/s11270-008-9788-7.

ZHANG, X K. et al. Soil nematode response to biochar addition in a Chinese wheat field. **Pedosphere**, v. 23: p. 98–103, Fev. 2013. DOI: 10.1016/S1002-0160(12)60084-8.

## CAPÍTULO 2: CONSÓRCIO DE CINCO ISOLADOS DE FUNGOS QUE CONDICIONAM O CRESCIMENTO RADICULAR E MICORRIZAS ARBUSCULARES EM SOJA, MILHO E CANA-DE-AÇÚCAR

### 1 RESUMO

Com o objetivo de avaliar o desenvolvimento vegetal e a colonização micorrízica arbuscular em cana-de-açúcar, milho e soja sob aplicação de cinco fungos promotores de crescimento vegetal (FCPV): *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*. Cana-de-açúcar, milho e soja cultivados em vasos sob dois tratamentos: (1) inóculo do consórcio fúngico e (2) controle sem inoculação. A quantidade de esporos nas suspensões aplicadas foi de  $1,1 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$  para *B. bassiana*,  $1,2 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$  para *M. anisopliae*,  $0,3 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$  para *P. chlamydosporia*,  $0,06 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$  para *P. lilacinum* e  $1,5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$  para *T. asperella*. No tratamento inoculado, os fungos foram aplicados nas sementes ( $0,1 \text{ mL g}^{-1}$  da suspensão) e na parte aérea por pulverizações a cada 28 dias (5, 8, 10 ou 15 mL de suspensão, dependendo do tamanho da planta). As médias foram submetidas à análise de variância e Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições. Os FCPV condicionam o crescimento de raízes de soja e milho e a colonização micorrízica arbuscular em cana-de-açúcar. Esses resultados são provavelmente devidos aos fungos produzirem e induzirem as plantas a sintetizarem fitohormônios: auxinas para o crescimento de raízes; e de ácidos jasmônico, abscísico e salicílico com função na regulação da colonização micorrízica. Esses efeitos são importantes quando se buscam alternativas conservacionistas na agropecuária, visto que os FPCV podem condicionar melhor exploração dos recursos no solo, com maior absorção nutrientes e água.

**Palavras-chave:** Fitohormônios. Condicionadores do solo. Endofíticos. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Pochonia chlamydosporia*. *Purpureocillium lilacinum*. *Trichoderma asperella*.

## 2 ABSTRACT

Plant growth and arbuscular mycorrhizal colonization was studied in sugarcane, corn and soybean by applying five plant growth promoting fungi (PGPF): *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum*, and *Trichoderma asperella*. Sugarcane, corn and soybean cultivated in pots under two treatments: (1) inoculation with the fungal consortium and (2) control without inoculation. The amount of spores in the suspensions applied was  $1.1 \times 10^7$  mL<sup>-1</sup> of *B. bassiana*,  $1.2 \times 10^7$  mL<sup>-1</sup> of *M. anisopliae*,  $0.3 \times 10^7$  mL<sup>-1</sup> of *P. chlamydosporia*,  $0.06 \times 10^7$  mL<sup>-1</sup> of *P. lilacinum*, and  $1.5 \times 10^7$  mL<sup>-1</sup> of *T. asperella*. In the inoculated treatment, 0.1 mL g<sup>-1</sup> of fungal suspension were applied to the seeds and shoots were sprayed every 28 days (5, 8, 10, or 15 mL of suspension, depending on the size of the plant). Means were analyzed by analysis of variance and Tukey's test at 5% probability level. The experiment was arranged in a completely randomized design, with six replications. PGPF mediate root growth in soybean and corn and arbuscular mycorrhizal colonization in sugarcane. These findings are probably caused by the fungi producing phytohormones and inducing the plants to synthesize phytohormones: auxins for root growth; and jasmonic, abscisic, and salicylic acids with a role in the regulation of mycorrhizal colonization. These effects are important when seeking conservation strategies in agriculture and livestock production, since PGPF can better mediate soil resource acquisition, promoting greater absorption of nutrients and water.

**Keywords:** Phytohormones. Soil conditioners. Endophytic. *Beauveria bassiana*. *Metarhizium anisopliae*. *Pochonia chlamydosporia*. *Purpureocillium lilacinum*. *Trichoderma asperella*.

### 3 INTRODUÇÃO

Um dos desafios da sociedade é planejar e propor alternativas sustentáveis na produção de alimentos para uma população estimada de 9 bilhões em 2050, em uma projeção média, de acordo com a Organização das Nações Unidas-ONU (SEARCHINGER et al., 2014). Apesar do crescimento significativo na produção de alimentos para suprir a explosão populacional nos últimos 50 anos (FAOSTAT, 2011; Pingali, 2012), novos métodos de produção de alimentos devem ser propostos (DUBEY et al., 2016). As alternativas para melhorar a produção é o aumento de áreas cultivadas ou o aumento de produtividade (por área), com investimentos no manejo das culturas (LARRIBA et al., 2015), uso de pesticidas e fertilizantes, melhoramento genético (AHMAD et al., 2012; MANNION; MORSE, 2012), uso de biofertilizantes ou promotores do crescimento vegetal. No entanto, maiores produções agrícolas almeçadas com o aumento significativo do uso de produtos químicos causam prejuízos ao ambiente (CHAPIN et al., 2000; PARMESAN; YOHE, 2003).

Com o intuito de estabelecer uma agricultura sustentável, que reduza os impactos causados ao ambiente, o uso de microrganismos promotores do crescimento de plantas tornou-se uma opção (BERG, 2009; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014). Um exemplo é a utilização de fungos como agentes de controle biológico de pragas e doenças, que pode contribuir com menor uso de pesticidas (PINEDA et al., 2013; ZELICOURT; AL-YOUSIF; HIRT, 2013). Além do impacto ambiental, há a questão econômica: bilhões de dólares são perdidos anualmente devido à ação de nematoides parasitas, pragas e fungos em diversas culturas (ABAD et al., 2008; WESEMAEL; VIAENE; MOENS, 2011).

Além de infectar insetos, nematoides e microrganismos, alguns fungos também colonizam tecidos de plantas e podem trazer outros benefícios ao vegetal, sendo nomeados como fungos promotores do crescimento vegetal (FPCV) (VEGA, 2008; SASAN; BIDOCHKA, 2012; OWNLEY; GWINN; VEGA, 2010; BARELLI et al., 2016). Por outro lado, fungos endofíticos se beneficiam dessa associação, com melhora na nutrição de N e recebendo fotossintatos, em uma provável relação de intercâmbio de metabólitos ainda não compreendida totalmente. Os mecanismos de promoção de crescimento vegetal podem ser próprios de cada interação isolado fúngico-planta, mas pode envolver controle de pragas e doenças, produção de fitohormônios, complexação e indisponibilização de espécies químicas tóxicas, interação com microrganismos benéficos e solubilização de nutrientes (JUNG et al., 2012; LIAO et al., 2014; OGGERIN et al., 2013).

Para os fungos do gênero *Trichoderma*, os principais mecanismos propostos para explicar o crescimento em tamanho e o aumento da resistência das plantas a doenças são a produção dos fitohormônios auxina, etileno e ácido abscísico (LINKIES et al., 2009; RAGHAVENDRA et al., 2010; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014). Esses fitohormônios tem papel no desenvolvimento vegetal e na adaptação do vegetal às condições de estresses (ZHANG et al., 2011; HAN et al., 2015).

O fungo entomopatogênico e endófito *Purpureocillium lilacinum* produz substâncias poliméricas extracelulares, que apresentam sítios interfaciais ativos e podem adsorver e complexar íons metálicos, induzindo a nucleação e precipitação de minerais (OGGERIN et al., 2013). Esse processo protege as plantas do estresse gerado pelos metais tóxicos (MISHRA; SINGH; ARORA, 2017). Além disso, esse fungo produz o fitohormônio ácido indolacético (AIA, uma auxina), e ainda apresenta várias atividades antifúngicas, como a produção de amônia e de enzimas hidrolíticas capazes de degradarem as paredes celulares dos fungos fitopatôgenos (CAVELLO et al., 2015).

Já o FPCV *Pochonia chlamydosporia*, além de combater nematoides fitopatogênicos (CARNEIRO et al., 2011; DIAS-ARIEIRA et al., 2011; ESCUDERO e LOPEZ-LLORCA, 2012), também tem sido relatado como promotor do crescimento de plantas de diversas culturas, como a alface (DIAS-ARIEIRA et al., 2011) e tomate (ESCUDERO; LOPEZ-LLORCA, 2012).

Em resposta à colonização endofítica desses fungos, é evidenciado uma expressão de genes na planta relacionados à biossíntese e transporte de hormônios de defesa e crescimento vegetal (BARI; JONES, 2009; JUNG et al., 2012; LARRIBA et al., 2015; MACIÁ-VICENTE et al., 2009b; OZALVO et al., 2014). Há fortes indícios que parte desses efeitos ligados aos fitohormônios resulte em maior crescimento de raízes. Como exemplo, a maior produção de raízes já foi explicada pela regulação de genes da biossíntese de auxinas em cevada colonizada por *Pochonia chlamydosporia* (MACIÁ-VICENTE et al., 2009b).

Além de regular o sistema de defesa vegetal e o crescimento de raízes, o efeito dos FPCV na biossíntese de fitohormônios, especialmente de ácido jasmônico (AJ) e ácido abscísico (ABA), pode estimular a simbiose entre as plantas e os microrganismos do solo, como a colonização micorrízica arbuscular das plantas (BALLARÉ, 2011; CONRATH et al., 2006; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2011; LEÓN-MORCILLO et al., 2012; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2011; JUNG et al., 2012).

Esses possíveis mecanismos dos FPCV na fisiologia da planta e na biologia do solo resultam na promoção de crescimento de raízes, da parte aérea e da produtividade agrícola

(CHOWDAPPA et al., 2013; JABER; ENKERLI, 2016; LIAO et al., 2014; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação conjunta dos cinco isolados fúngicos, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*, sobre o desenvolvimento, a nutrição vegetal e a colonização micorrízica arbuscular em cana-de-açúcar, milho e soja.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Ensaios em casa-de-vegetação

Foram realizados três ensaios em vasos, com cana-de-açúcar (variedade RB93-7570), milho (variedade AG 1051) e soja (variedade 7200 I Pro), recebendo dois tratamentos cada cultura: (1) controle sem inoculação e (2) aplicação conjunta de cinco isolados fúngicos com potencial de condicionar o crescimento vegetal: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperellum*.

Para milho e soja, foram colocadas 9 sementes por vaso contendo 10 dm<sup>3</sup> de solo. Quando as plantas apresentavam o primeiro par de folhas expandido, foram desbastadas, permanecendo duas plantas por vaso.

Em vaso contendo 50 dm<sup>3</sup> de solo, foram plantados 3 colmos de cana-de-açúcar.

O solo utilizado no experimento foi coletado em novembro/2016 em uma área de Latossolo vermelho distrófico típico, argiloso (TABELA 1), localizado dentro do bioma Cerrado, no estado de Minas Gerais, Brasil (18<sup>o</sup> 57' 34" S; 48<sup>o</sup> 12' 05" W). Antes da coleta, esse solo foi utilizado para culturas anuais (cultura de milho no verão 2015/2016 e sorgo no inverno de 2016). Para o ensaio, o solo foi adubado conforme necessidade da cultura (TABELA 2).

**TABELA 1** - Fertilidade inicial do solo coletado para posterior uso como substrato nos ensaios com milho, soja e cana-de-açúcar . Uberlândia, 2017.

pH	M.O	Ca	Mg	K	Al	H+Al	CTC
	dag Kg <sup>-1</sup> solo						
5,8	3,8	3	0,9	0,2	0,1	4,2	8,31



**TABELA 2** - Quantidade de nutrientes adicionados em cada vaso nos ensaios com milho, soja e cana-de-açúcar.

Cultura/Nutriente	N	Zn	Cu	Mn	B	P
	mg dm <sup>-3</sup>					
Soja	-	2,0	0,25	1,25	0,25	
Milho	25,0 <sup>1</sup>	-	-	-	-	70,0
Cana-de-açúcar	30,0	-	-	-	-	-

<sup>1</sup> – Dividido em duas vezes, aos 45 dias e 90 dias após emergência das plantas.

No milho e na soja, as parcelas foram feitas em duplicata, para análise do desenvolvimento da época de florescimento, para determinação da fertilidade do solo, nutrição foliar e de grãos na época de maturação.

#### 4.2 Preparo de inóculo do consórcio de fungos

Os isolados *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella* foram cedidos pela empresa BIOSAG - Comércio e Serviços Agrícolas Ltda, na forma de inóculo comercial em frascos contendo meio de cultura com cada isolado.

O meio de cultura de cada isolado foi homogeneizado em liquidificador com 500 mL de água destilada. Em seguida, os esporos foram contados em câmara de Neubauer, e as cinco suspensões de isolados fúngicos foram reunidas, resultando em um volume final de 2,5 L. Essa suspensão foi utilizada para a aplicação em sementes e na parte aérea, apresentou, em média,  $1,1 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *B. bassiana*,  $1,2 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *M. anisopliae*,  $0,3 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *P. chlamydosporia*,  $0,6 \times 10^6$  esporos mL<sup>-1</sup> de *P. lilacinum* e  $1,5 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *T. asperella*.

#### 4.3 Inóculo nas sementes

Para cada 100 gramas de sementes, foram adicionados 10 mL da suspensão contendo os cinco isolados fúngicos reunidos. A mistura foi homogeneizada em béquer utilizando bastão de vidro.

#### 4.4 Inóculo na parte aérea

Para a aplicação foliar, a suspensão de esporos de 2,5 L (com os cinco isolados fúngicos) foi diluída na proporção 1:100 com água destilada (990 ml de água destilada com 10 ml da suspensão de esporos). Duas aplicações foliares foram realizadas com pulverizador manual: no estágio fenológico V3 (3 folhas desenvolvidas) e após 28 dias da primeira aplicação em soja e milho; e aos sete dias de plantio e a outra após 28 dias da primeira aplicação na cana-de-açúcar. Os volumes utilizados para pulverização foram determinados de acordo com o tamanho das plantas (TABELA 3).

**TABELA 3** - Quantidade de suspensão fúngica (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*) aplicada de forma aérea nas culturas, com o auxílio de um pulverizador manual.

Cultura	1ª Aplicação		2ª Aplicação	
	mL planta <sup>-1</sup>			
Soja <sup>1</sup>	5,0		8,0	
Milho <sup>1</sup>	8,0		10,0	
Cana-de-açúcar <sup>2</sup>	10,0		15,0	

Suspensão contendo, em média,  $1,1 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *B. bassiana*,  $1,2 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *M. anisopliae*,  $0,3 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *P. chlamydosporia*,  $0,6 \times 10^6$  esporos mL<sup>-1</sup> de *P. lilacinum* e  $1,5 \times 10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *T. asperella* <sup>1</sup> – primeira aplicação no estágio fenológico V3 (3 folhas desenvolvidas) e a segunda após 28 dias da primeira aplicação; <sup>2</sup> – primeira aplicação após sete dias de plantio e a segunda após 28 dias da primeira aplicação.

#### 4.5 Desenvolvimento vegetal

O desenvolvimento vegetal foi analisado no momento do florescimento (todas as plantas com pelo menos uma flor/inflorescência) para as culturas de milho e soja, e aos 160 dias após o plantio para a cana-de-açúcar. Nos 3 ensaios, foram avaliados os parâmetros de desenvolvimento das plantas no florescimento (massa fresca e seca da parte aérea e das raízes) e colonização micorrízica arbuscular. Na soja, os nódulos nas raízes foram contados. Para determinação do peso seco, as amostras foram colocadas em uma estufa a 60 °C, por um período de 72 horas, e depois pesadas em uma balança analítica.

#### **4.6 Fertilidade do solo e nutrição foliar e de grãos**

Após 160 dias do plantio da cana-de-açúcar e após a maturação dos grãos da soja e do milho, foram avaliadas a fertilidade do solo, a nutrição dos tecidos foliares de milho e cana-de-açúcar, a produtividade e nutrição dos grãos em soja. Os resíduos das vagens de soja também foram contabilizadas. No solo, foram avaliados pH, Carbono orgânico, H+Al, Al, N total, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Mn, Cu, Fe e B. Nos tecidos vegetais, foram analisadas os teores de N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Mn, Cu, Fe e B.

#### **4.7 Colonização micorrízica arbuscular**

As estruturas fúngicas internas às raízes foram coradas pelo método de Vierheilig et al. (1998). Para tanto, as raízes foram lavadas em água corrente para retirada de solo. Então, fragmentos de raízes de 2 cm de comprimento coletados no terço superior, médio e inferior do sistema radicular das culturas foram colocados em cassetes histológicos, em duplicatas. Para a clarificação das raízes, os cassetes foram imersos em KOH 10%, por 16 horas. A solução foi renovada e os cassetes submetidos a 60 °C por 10 minutos. Em seguida, as raízes foram lavadas e colocadas em solução HCl 1% para acidificação. Por fim, as estruturas fúngicas foram coradas a 90 ° C durante 3 minutos com uma solução de 5% de tinta caneta Parker® comercial, 5% de ácido acético e 10% de lactoglicerol. Para a determinação da porcentagem de comprimento de raiz colonizada pelos fungos micorrizicos arbusculares (FMA), foi utilizado o método da placa reticulada, proposto por Giovannetti e Mosse (1980), em microscópio estereoscópio.

#### **4.8 Estatística**

O delineamento experimental dos 3 ensaios foi inteiramente casualizado, com ou sem o condicionador Biosag, com seis repetições. Nas culturas anuais, as repetições foram em duplicata para permitir análise do desenvolvimento vegetal no florescimento e a nutrição vegetal após maturação. A ocorrência de outliers foram testadas pelo programa ACTION 2.9. Após esse primeiro passo, foram testados homogeneidade das variâncias dos tratamentos (teste de Levene,  $p > 0,05$ ) e a normalidade dos resíduos (teste de Anderson – Darling,  $p > 0,05$ ). Caso as variâncias não fossem iguais ou os resíduos não seguissem normalidade, aplicou-se log ou raiz quadrada nas variáveis, visando atender os pré-requisitos necessários para se aplicar testes de médias de variáveis paramétricas. As médias das variáveis paramétricas foram

submetidas à análise de variância (teste de Levene) e teste de Tukey ( $p < 0.05$ ), utilizando o programa IBM SPSS Statistics. As médias das variáveis não paramétricas foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ), com auxílio do programa IBM SPSS Statistics.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Desenvolvimento vegetal

A inoculação do consórcio fúngico apresentou resposta positiva em pelo menos um dos parâmetros do desenvolvimento vegetal para soja e milho (TABELA 4). Na soja, a inoculação dos isolados fúngicos aumentou significativamente a massa seca das raízes em 89,32 % e a massa fresca das raízes em 43,71 % em comparação ao tratamento não inoculado (TABELA 4,  $p < 0.05$ ). No milho, verificou-se um aumento significativo na massa fresca das raízes de 53,39 % no tratamento inoculado.

**TABELA 4** - Variáveis de crescimento de plantas de soja, milho e cana, quando inoculadas e não inoculadas com a solução fúngica composta pelos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chalamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*. Uberlândia, 2018.

Variável	Tratamento	Soja	Milho	Cana
MFPA (g)	Inoculado	53,44 (6,62) a	199,76 (25,26) a	1481,17 (354,82) a
	Não Inoculado	49,22 (14,41) a	185,88 (20,03) a	1418,24 (199,43) a
MFR (g)	Inoculado	<b>26,43 (8,81) a</b>	<b>213,69 (65,20) a</b>	1274,17 (131,54) a
	Não Inoculado	<b>18,39 (6,81) b</b>	<b>139,31 (30,55) b</b>	1205,60 (196,79) a
MFN (g)	Inoculado	3,67 (0,26) a	-	-
	Não Inoculado	2,76 (1,49) a	-	-
MSPA (g)	Inoculado	11,66 (3,47) a	101,21 (32,21) a	451,03 (93,55) a
	Não Inoculado	11,51 (2,88) a	124,04 (48,43) a	417,70 (76,63) a
MSR (g)	Inoculado	<b>3,90 (0,20) a</b>	127,42 (50,44) a	135,80 (33,64) a
	Não Inoculado	<b>2,06 (0,90) b</b>	83,43 (6,75) a	146,52 (17,79) a
MSN (mg)	Inoculado	477,78 (78,92) a	-	-
	Não Inoculado	354,08 (127,07) a	-	-
No. de Nódulos	Inoculado	208,20 (16,30) a	-	-
	Não Inoculado	211,50 (81,13) a	-	-

Médias (desvio padrão) (n = 6) de variáveis de plantas crescidas em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas diferentes (destacadas em negrito) mostram diferenças entre os tratamentos inoculado e não inoculado ( $p < 0,05$ , teste de Tukey para variáveis paramétricas e Kruskal Wallis para variáveis não paramétricas). MFPA: Massa Fresca Parte Aérea; MFR: Massa Fresca Raízes; MFN: Massa Fresca Nódulos; MSPA: Massa Seca Parte Aérea; MSR: Massa Seca Raízes; MSN: Massa Seca Nódulos; No. de Nódulos: número de nódulos.

A produtividade da soja e a massa de resíduos das vagens não diferiram entre os tratamentos (TABELA 5).

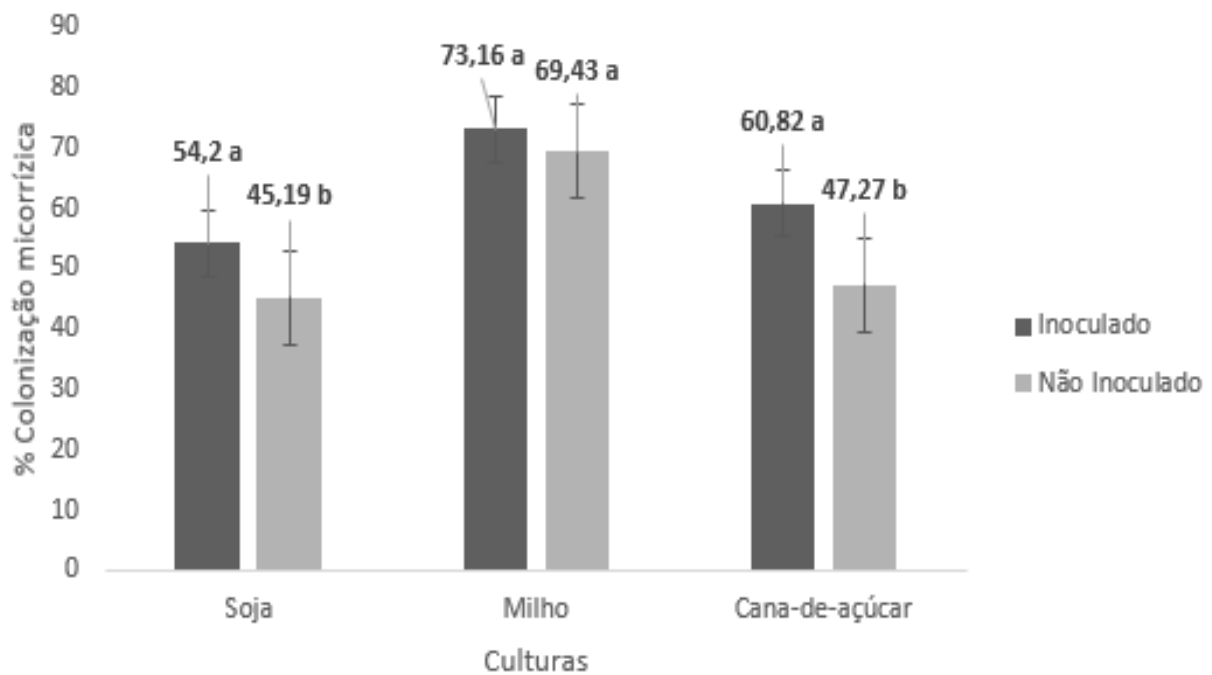
**TABELA 5** - Produção de grãos das plantas de soja quando inoculadas ou não inoculadas com a solução fúngica composta pelos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chalamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*.

Variável	Tratamento	Soja
Peso dos grãos	Inoculado	14,41 (6,21) a
	Não inoculado	14,20 (4,67) a
Peso casca	Inoculado	8,88 (1,79) a
	Não inoculado	7,37 (1,96) a

Médias (desvio padrão) (n=6) da produção de grãos das plantas de soja crescidas em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas iguais indicam igualdade entre os tratamentos inoculado e não inoculado ( $p < 0,05$ , teste de Tukey para variáveis paramétricas e Kruskal Wallis para variáveis não paramétricas).

## 5.2 Colonização micorrízica arbuscular

A colonização por fungos micorrízicos arbusculares variou de 45 % a 73 % do comprimento de raízes (FIGURA 1). A taxa de colonização do tratamento inoculado em comparação com o não inoculado foi 20 % maior para a soja e 28 % maior para a cana-de-açúcar ( $p < 0.05$ ). As raízes de milho não apresentaram diferenças na extensão de raízes colonizadas por FMA entre os dois tratamentos.



**FIGURA 1.** Colonização micorrízica, em porcentagem, nas culturas de soja, cana e milho, quando inoculadas e não inoculadas com a solução fúngica composta pelos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*.

## 5.3 Análise do tecido vegetal

A maioria dos teores de nutrientes no tecido vegetal não foi influenciada pelos tratamentos (TABELA 6). As duas exceções foram o boro na soja e o cobre no milho, sempre com menores valores no tratamento inoculado.

**TABELA 6** - Teores de nutrientes nos tecidos foliares da cana e do milho e nos grãos de soja, em plantas inoculadas ou não inoculadas com a solução fúngica composta pelos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae.*, *Pochonia chalamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*.

Variável	Tratamento	Soja	Milho	Cana
N (g/kg solo)	Inoculado	56,00 (3,60) a	4,48 (0,38) a	4,90 (0,00) a
	Não Inoculado	58,38 (0,80) a	4,08 (1,28) a	4,32 (1,36) a
P (g/kg solo)	Inoculado	5,18 (1,11) a	3,03 (1,03) a	1,68 (0,86) a
	Não Inoculado	5,47 (0,76) a	2,85 (0,56) a	1,30 (0,58) a
K (g/kg solo)	Inoculado	21,33 (0,82) a	13,50 (0,71) a	11,33 (2,40) a
	Não Inoculado	21,08 (0,66) a	13,08 (0,86) a	11,75 (2,02) a
Ca (g/kg solo)	Inoculado	3,50 (0,55) a	2,00 (0,00) a	3,50 (0,55) a
	Não Inoculado	3,17 (0,41) a	2,17 (0,41) a	3,33 (0,52) a
Mg (g/kg solo)	Inoculado	1,83 (0,41) a	1,00 (0,00) a	1,00 (0,00) a
	Não Inoculado	1,67 (0,52) a	1,00 (0,00) a	1,00 (0,00) a
S (g/kg solo)	Inoculado	1,63 (0,24) a	1,73 (1,27) a	0,62 (0,10) a
	Não Inoculado	2,03 (0,20) a	1,55 (1,19) a	0,60 (0,07) a
B (mg/kg solo)	Inoculado	<b>38,00 (3,46) b</b>	11,83 (1,94) a	10,20 (2,95) a
	Não Inoculado	<b>44,17 (7,25) a</b>	13,60 (1,67) a	11,33 (1,63) a
Cu (mg/kg solo)	Inoculado	13,33 (1,21) a	<b>5,67 (0,82) b</b>	7,50 (0,84) a
	Não Inoculado	13,80 (1,64) a	<b>6,33 (0,82) a</b>	7,17 (1,17) a
Fe (mg/kg solo)	Inoculado	94,67 (30,65) a	221,67 (78,23) a	305,67 (167,52) a
	Não Inoculado	60,50 (46,89) a	141,33 (30,17) a	271,80 (103,54) a
Mn (mg/kg solo)	Inoculado	30,60 (2,41) a	34,67 (6,38) a	90,00 (9,97) a
	Não Inoculado	33,00 (3,63) a	42,50 (10,48) a	103,20 (5,76) a
Zn (mg/kg solo)	Inoculado	51,00 (5,51) a	22,00 (4,94) a	10,17 (2,14) a
	Não Inoculado	49,50 (4,04) a	17,50 (1,52) a	10,17 (2,71) a

Médias (desvio padrão) (n = 6) de teores dos nutrientes em tecidos foliares (milho e cana) e em grãos (soja) de plantas crescidas em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas diferentes (destacadas em negrito) mostram diferenças entre os tratamentos inoculado e não inoculado ( $p < 0,05$ , teste de Tukey para variáveis paramétricas e Kruskal Wallis para variáveis não paramétricas).

#### 5.4 Fertilidade do solo

O inóculo dos cinco isolados fúngicos e o crescimento das plantas não promoveram alterações na fertilidade do solo; a única exceção foi o maior teor de enxofre no tratamento não inoculado em soja (TABELA 7).

**TABELA 7** - Atributos da fertilidade do solo sob plantas de soja, milho e cana, quando inoculadas ou não inoculadas com a solução fúngica composta pelos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*., *Pochonia chalamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*.

Variável	Tratamento	Soja	Milho	Cana
pH	Inoculado	5,60 (0,00) a	5,67 (0,12) a	5,52 (0,12) a
	Não Inoculado	5,44 (0,05) a	5,73 (0,08) a	5,65 (0,15) a
P (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	21,82 (2,64) a	41,95 (19,44) a	20,57 (0,99) a
	Não Inoculado	20,52 (0,81) a	33,43 (7,74) a	20,50 (1,20) a
K (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	28,67 (4,03) a	142,00 (29,13) a	21,83 (2,32) a
	Não Inoculado	29,17 (5,42) a	126,20 (8,35) a	24,00 (2,55) a
S-SO <sub>4</sub> (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	<b>3,20 (0,40) b</b>	4,83 (0,75) a	3,20 (0,45) a
	Não Inoculado	<b>4,00 (0,00) a</b>	4,83 (0,41) a	2,50 (0,84) a
K (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	0,07 (0,01) a	0,37 (0,07) a	0,06 (0,01) a
	Não Inoculado	0,08 (0,01) a	0,31 (0,01) a	0,06 (0,01) a
Ca (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	3,18 (0,32) a	2,93 (0,10) a	2,87 (0,10) a
	Não Inoculado	3,22 (0,29) a	2,87 (0,10) a	2,86 (0,09) a
Mg (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	0,70 (0,08) a	0,83 (0,08) a	0,87 (0,05) a
	Não Inoculado	0,68 (0,08) a	0,78 (0,08) a	0,88 (0,08) a
H + Al (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	3,93 (0,30) a	3,97 (0,20) a	4,20 (0,00) a
	Não Inoculado	4,07 (0,21) a	3,90 (0,17) a	4,28 (0,11) a
C.O (dag Kg <sup>-1</sup> solo)	Inoculado	1,40 (0,14) a	1,43 (0,05) a	1,40 (0,09) a
	Não Inoculado	1,42 (0,12) a	1,37 (0,05) a	1,33 (0,10) a
B (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	0,22 (0,06) a	0,17 (0,01) a	0,14 (0,02) a
	Não Inoculado	0,24 (0,05) a	0,18 (0,03) a	0,16 (0,03) a
Cu (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	0,88 (0,20) a	0,70 (0,00) a	0,72 (0,12) a
	Não Inoculado	0,93 (0,08) a	0,72 (0,04) a	0,72 (0,04) a
Fe (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	36,17 (10,81) a	30,00 (7,85) a	26,00 (3,08) a/
	Não Inoculado	26,83 (2,99) a	29,17 (7,22) a	29,33 (2,58) a
Mn (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	1,48 (0,22) a	1,55 (0,44) a	1,78 (0,54) a
	Não Inoculado	1,45 (0,36) a	1,57 (0,23) a	1,68 (0,49) a
Zn (mg kg <sup>-3</sup> solo)	Inoculado	3,62 (1,32) a	1,12 (0,08) a	1,18 (0,13) a
	Não Inoculado	3,18 (0,56) a	1,08 (0,04) a	1,13 (0,05) a

Médias (desvio padrão) (n=6) de teores dos nutrientes nos solos dos vasos de plantas crescidas em casa-de-vegetação, sendo que as letras minúsculas diferentes (destacadas em negrito) mostram diferenças entre os tratamentos inoculado e não inoculado (p<0.05, teste de Tukey para variáveis paramétricas e Kruskal Wallis para variáveis não paramétricas).



## 6 DISCUSSÃO

Os FPCV podem influenciar o desenvolvimento de plantas em vários aspectos (CAROLLO et al., 2010; GIBSON et al., 2014; LIAO et al., 2014, SASAN; BIDOCHA, 2012). Um efeito bastante comum no desenvolvimento de plantas é o aumento do crescimento de raízes (MACIÁ-VICENTE et al., 2009a; JABER; ENKERLI, 2016). O aumento da massa de raízes quando a planta é inoculada já foi relatado como uma resposta à produção de auxinas pelos fungos; e também à capacidade de esses microrganismos induzirem as plantas a sintetizarem fitohormônios (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2011; KHAN et al., 2012; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2011; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014). Os fungos do gênero *Metarhizium* (LIAO et al., 2017), *Purpureocillium* (CAVELLO et al., 2015), *Trichoderma* (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009), *Beauveria* (PEDRAS; MONTAUT, 2003) e *Pochonia* (ZAVALA-GONZALES et al., 2015) foram vistos com produtores de auxinas.

As diferenças significativas nas porcentagens de colonizações micorrízicas nas culturas de soja e cana-de-açúcar (FIGURA 1) pode ser explicada pela produção de ácidos jasmônico (AJ), salicílico (AS) e de abscísico (ABA) pelas plantas colonizadas por FPCV, uma vez que demonstraram que esses fitohormônios têm papel na regulação da simbiose micorrízica arbuscular (BALLARÉ, 2011; ETEMADI et al., 2014; FOO et al., 2013; FRACETTO et al., 2013; HAUSE et al., 2007; LEÓN- MORCILLO et al., 2012;).

Em um experimento com tomates alterados geneticamente para não sintetizarem ABA, e comparando com plantas não modificadas, verificou-se que a intensidade de colonização nas raízes por FMA e abundância de arbúsculos formados foram reduzidas drasticamente (HERRENA-MEDINA et al., 2007). Uma das explicações para tal acontecimento é de que o ABA afeta negativamente a produção de etileno, sendo que esse último foi mostrado como um agente que afeta negativamente a colonização por FMA nas raízes (FRACETTO et al., 2013; GEIL et al., 2001).

Além disso, em plantas de *Medicago truncatula* alteradas geneticamente para sintetizarem menores quantidades de AJ, houve a redução na extensão de hifas intraradiculares e no número de arbúsculos (ISAYENKOV et al., 2005). Dentre os supostos mecanismos do AJ que colaboram na simbiose entre FMA, está a indução na síntese de flavonoides, que são sinalizadores para o estímulo para colonização e reorganização do citoesqueleto microtubular após a colonização das raízes por FMA (MATSUKI et al., 1992; GENRE; BONFANTE, 1998; HARRISON, 1999; HAUSE et al., 2007).

Por outro lado, o AS mostrou ter possíveis efeitos negativos na colonização micorrízica em raízes de ervilha, onde níveis altos desse hormônio foram associados a baixa associação de MA (BLILOU; OCAMPO; GARCÍA-GARRIDO, 1999). Em outro estudo feito com plantas de tabaco, verificou-se que as unidades de infecção de MA e número de arbúsculos foi maior quando a produção de AS foi mitigada em comparação a plantas com produção aumentada de AS (HERRERA-MEDINA et al., 2003). Todavia, é preciso ressaltar que níveis elevados de AS prorrogam o grau máximo de colonização, mas não afetam a capacidade máxima, pois no final do experimento verificou-se semelhança entre os tratamentos (HERRERA-MEDINA et al., 2003).

Uma vez que os FPCV têm relação com reguladores que estimulam (ABA e AJ) ou deprimem (AS) a colonização micorrízica, é provável que esses fungos tenham ação no ajuste para um balanço de fitohormônios que acabe por promover a colonização micorrízica (BALLARÉ, 2011; CONRATH et al., 2006; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2011; FOO et al., 2013; LEÓN- MORCILLO et al., 2012; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2011; MARTÍN-RODRIGUEZ et al., 2015; JUNG et al., 2012; WASTERNAK; HAUSE, 2013).

Apesar de os FPCV possuírem a capacidade de solubilizar/quelar o fósforo, manganês e o zinco no solo (ALTOMARE et al., 1999; BAREEN et al., 2012) não houve modificações das concentrações desses nutrientes no solo nem no tecido vegetal. Nesse contexto, pelo melhor que sabemos, não há trabalho publicado atestando a influência dos cinco fungos aqui testados na fertilidade do solo e nos teores de nutrientes nos tecidos vegetais.

A única variável de fertilidade do solo que apresentou diferença estatística entre os tratamentos foi o sulfato sob plantas de soja, sendo menor no tratamento inoculado. Uma possível razão para essa diferença entre os tratamentos é a maior retirada de sulfato do solo pelas plantas. Já foi demonstrado que plantas de cebola crescendo em solo com baixos níveis de P no solo, mas micorrizadas, absorvem mais sulfato em comparação a plantas não micorrizadas (RHODES; GERDEMANN, 1978). Como a soja inoculada com FPCV apresentou maior colonização micorrízica, isso pode ter favorecido maior absorção de sulfato, reduzindo os níveis no solo.

## 7 CONCLUSÃO

Os cinco FPCV condicionam o crescimento de raízes de soja e milho e a colonização micorrízica arbuscular em cana-de-açúcar. Os prováveis mecanismos para isso são a produção e a regulação da síntese de fitohormônios pelas plantas. Pelo melhor que sabemos, não há relato

envolvendo aplicação de consórcio com os cinco fungos endófitos, nem estudo que mostre a influência direta de inoculação desses microrganismos na colonização de FMA nas raízes. O maior desenvolvimento do sistema radicular vinculado a maior colonização micorrízica pode resultar em absorção mais eficiente de nutrientes e água. Esses resultados também sugerem efeitos indiretos para o solo, como a melhoria na estruturação, aeração e estímulo à rizosfera, com consequências para a ciclagem de nutrientes. Portanto, os efeitos observados aqui são importantes quando se buscam alternativas conservacionistas para o uso da terra por possibilitar a redução na demanda de fertilizantes.

## REFERÊNCIAS

- ABAD, P. et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Nature biotechnology**, New York, v. 26, n. 8, p. 909-915, July 2008. DOI: 10.1038/nbt.1482.
- AHMAD, P. et al. Role of transgenic plants in agriculture and biopharming. **Biotechnology advances**, Amsterdam, v. 30, n. 3 p. 524-540, May/June 2012. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2011.09.006](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.09.006).
- ALTOMARE, C. et al. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* rifai 1295-22. **Applied environmental microbiology**, Washington, DC, v. 65, n. 7, p. 2.926-2.933, July 1999. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/65/7/2926.full>>. Acesso em: 28 Nov. 2017.
- BALLARÉ, C. L. Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. **Trends in plant science**, Oxford, v. 16, n. 5, p. 249-257, May 2011. DOI: [10.1016/j.tplants.2010.12.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.12.001).
- BAREEN, F.; SHAFIQ, M.; JAMIL, S. Role of plant growth regulators and a saprobic fungus in enhancement of metal phytoextraction potential and stress alleviation in pearl millet. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v. 237-238, p. 186-193, Oct. 2012. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2012.08.033](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.033).
- BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied microbiology and biotechnology**, Berlin, v. 84, n. 1, p.11-18, Aug. 2009. DOI: 10.1007/s00253-009-2092-7.
- BARELLI, L. et al. Fungi with multifunctional lifestyles: endophytic insect pathogenic fungi. **Plant molecular biology**, Dordrecht, v. 90, n. 6, p. 657-664, Apr. 2016. DOI: [10.1007/s11103-015-0413-z](https://doi.org/10.1007/s11103-015-0413-z).
- BARI, R.; JONES, J. D. Role of plant hormones in plant defense responses. **Plant molecular biology**, Dordrecht, v. 69, n. 4, p. 473-488, Mar. 2009. DOI: [10.1007/s11103-008-9435-0](https://doi.org/10.1007/s11103-008-9435-0).
- BLILOU, I.; OCAMPO, J. A.; GARCÍA-GARRIDO, J. M. Resistance of pea roots to endomycorrhizal fungus or *Rhizobium* correlates with enhanced levels of endogenous salicylic acid. **Journal of experimental botany**, Oxford, v. 50, n. 340, p. 1663-1668, Nov. 1999. DOI: [10.1093/jxb/50.340.1663](https://doi.org/10.1093/jxb/50.340.1663).
- CAVELLO, I. A. et al. Plant growth promotion activity of Keratinolytic Fungi growing on a recalcitrant waste known as (hair waste). **Biotechnology research international**, New York, v. 2015, p. 1-10, Nov. 2015. DOI: 10.1155/2015/952921.
- CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on guava (*Psidium guajava*) plants. **Nematology**, Leiden, v. 13, n. 6, p. 721-728, 2011. DOI: [10.1163/138855410X545777](https://doi.org/10.1163/138855410X545777).

CAROLLO, C. A. et al. Fungal tyrosine betaine, a novel secondary metabolite from conidia of entomopathogenic *Metarhizium* spp. fungi. **Fungal biology**, Amsterdam, v. 114, n. 5-6, p. 473-480, May/June, 2010. DOI: [10.1016/j.funbio.2010.03.009](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.03.009).

CHAPIN, F. S. et al. Consequences of changing biodiversity. **Nature: international journal of science**, Basingstoke, v. 405, p. 234-242, May, 2000. DOI: 10.1038/35012241.

CHOWDAPPA, P. et al. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biology control**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 109-117, Apr. 2013. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2012.11.009](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.009).

CONRATH, U. et al. Priming: getting ready for battle. **Molecular plant-microbe interactions**, Saint Paul, v. 19, n. 10, 1.062-1.071, Oct. 2006. DOI: [10.1094/MPMI-19-1062](https://doi.org/10.1094/MPMI-19-1062).

CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. *Trichoderma*-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin dependent mechanisms in *Arabidopsis thaliana* and confers resistance against necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. **Plant signal & behavior**, Georgetown, TX, v. 6, n. 10, p. 1.554-1.563, Oct. 2011. DOI: [10.4161/psb.6.10.17443](https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17443).

DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Efficiency of *Pochonia chlamydosporia* in *Meloidogyne incognita* control in lettuce crop (*Lactuca sativa* L.). **Journal of food agriculture and environment**, Helsinki, v. 9, n. 3-4, p. 561-563, Oct. 2011. DOI: [10.1234/4.2011.2333](https://doi.org/10.1234/4.2011.2333).

DUBEY, R. K. et al. Exploring rhizospheric interactions for agricultural sustainability: the need of integrative research on multi-trophic interactions. **Journal of cleaner production**, Oxford, v. 115, p. 362-365, Mar. 2016. DOI: [10.1016/j.jclepro.2015.12.077](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.12.077).

ESCUADERO, N.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Effects on plant growth and root-knot nematode infection of an endophytic GFP transformant of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Symbiosis**, Philadelphia, v. 57, n. 1, p. 33-42, May 2012. DOI: 10.1007/s13199-012-0173-3.

ETEMADI, M. et al. Auxin perception is required for arbuscule development in arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Plant physiology**, Lancaster, v. 166, p. 281-292, Sept. 2014. DOI:10.1104/pp.114.246595.

FOO, E. et al. Plant hormones in arbuscular mycorrhizal symbioses: an emerging role for gibberellins. **Annals of botany**, Oxford, v. 111, n. 5, p. 769-779, May 2013. DOI:10.1093/aob/mct041.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAOSTAT. **Database collection of the Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2011. Disponível em: <[www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org)>. Acesso em: 19 Nov. 2017.

FRACETTO, G. G. M. et al. Tomato ethylene mutants exhibit differences in arbuscular mycorrhiza development and levels of plant defense-related transcripts. **Symbiosis**, Philadelphia, v. 60, p. 155-167, Feb. 2017. DOI: 10.1007/s13199-013-0251-1.

GEIL, R. D.; PETERSON, R. L.; GUINEL, F. C. Morphological alterations of pea (*Pisum sativum* cv. Sparkle) arbuscular mycorrhizas as a result of exogenous ethylene treatment. **Mycorrhiza**, Berlin, v. 11, n. 3, p. 137-143, Aug. 2001. DOI: [10.1007/s005720100120](https://doi.org/10.1007/s005720100120).

GENRE, A.; BONFANTE, P. Actin versus tubulin configuration in arbuscule-containing cells from mycorrhizal tobacco roots. **New phytologist**, London, UK, v. 140, n. 4, p. 745-752, Dec. 1998. DOI: [10.1046/j.1469-8137.1998.00314.x](https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00314.x).

HAN, Y. et al. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas stutzeri* a1501 facilitates the growth of rice in the presence of salt or heavy metals. **Journal of microbiology and biotechnology**, Seoul, v. 25-27, p. 1.119-1.128, Mar. 2015. DOI: [10.4014/jmb.1412.12053](https://doi.org/10.4014/jmb.1412.12053).

GIBSON, D. M. et al. Discovering the secondary metabolite potential encoded within entomopathogenic fungi. **Natural product reports**, London, UK, v. 31, n. 10, p. 1.287-1.305, Aug. 2014. DOI: [10.1039/c4np00054d](https://doi.org/10.1039/c4np00054d).

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New phytologist**, London, UK, v. 84, n. 3, p. 489-500, Mar. 1980. DOI: [10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x).

HARRISON, M. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, Palo alto, v. 50, p. 361-389, June 1999. DOI: [10.1146/annurev.arplant.50.1.361](https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.361).

HAUSE, B. et al. Jasmonates in arbuscular mycorrhizal interactions. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 8, n. 1, p. 101-110, Jan. 2007. DOI: [10.1016/j.phytochem.2006.09.025](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.09.025).

HERRERA-MEDINA, M. J. et al. Root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi is affected by the salicylic acid content of the plant. **Plant science**, London, UK, v. 164, n. 6, p. 993-998, June 2003. DOI: [10.1016/S0168-9452\(03\)00083-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00083-9).

\_\_\_\_\_. Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. **New phytologist**, London, UK, v. 175, p. 554-564. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2007.02107.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02107.x).

ISAYENKOV, S. et al. Suppression of allene oxide cyclase in hairy roots of *Medicago truncatula* reduces jasmonate levels and the degree of mycorrhization with *Glomus intraradices*. **Plant physiology**, Lancaster, v. 139, n. 3, p. 1.401-1.410, Nov. 2005. DOI: [10.1104/pp.105.069054](https://doi.org/10.1104/pp.105.069054).

JABER, L. R.; ENKERLI, J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biological control**, New York, v. 103, p. 187-195, Dec. 2016. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2016.09.008](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008).

JUNG, S. C. et al. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. **Journal of chemical ecology**, New York, v. 38, n. 6, p. 651-664, June 2012. DOI: [10.1007/s10886-012-0134-6](https://doi.org/10.1007/s10886-012-0134-6).

LARRIBA, E. et al. Endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* reveals plant growth promotion and a general defense and stress transcriptomic response. **Journal of plant research**, Tokyo, v. 128, n. 4, p. 665-678, July, 2015. DOI: [10.1007/s10265-015-0731-x](https://doi.org/10.1007/s10265-015-0731-x).

KHAN, M. R. Management of root-knot disease in eggplant through the application of biocontrol fungi and dry neem leaves. **Turkish journal of biology**, Ankara, v. 36, n. 2, p. 161-169, Jan. 2012. DOI: [10.3906/biy-1008-72](https://doi.org/10.3906/biy-1008-72).

LEÓN-MORCILLO, R. J. et al. Late activation of the 9-oxylipin pathway during arbuscular mycorrhizal formation in tomato and its regulation by jasmonate signaling. **Journal experimental botany**, Oxford, v. 63, n. 10, p. 3.545-3.558, June 2012. DOI: [10.1093/jxb/ers010](https://doi.org/10.1093/jxb/ers010).

LIAO, X. et al. Overexpression of a *Metarhizium robertsii* HSP25 gene increases thermotolerance and survival in soil. **Applied microbiology and biotechnology**, Berlin, v. 98, n. 2, p. 777-783, Jan. 2014. DOI: [10.1007/s00253-013-5360-5](https://doi.org/10.1007/s00253-013-5360-5).

\_\_\_\_\_. *Metarhizium robertsii* produces indole-3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects. **Microbiology**, Washington, DC, v. 163, p. 980-991, July 2017. DOI: [10.1099/mic.0.000494](https://doi.org/10.1099/mic.0.000494).

LINKIES, A. et al. Ethylene interacts with abscisic acid to regulate endosperm rupture during germination: a comparative approach using *Lepidium sativum* and *Arabidopsis thaliana*. **The plant cell**, Rockville, v. 21, p. 3.803-3.822, Dec. 2009. DOI: [10.1105/tpc.109.070201](https://doi.org/10.1105/tpc.109.070201).

MACIÁ-VICENTE, J. G. et al. Real-time PCR quantification and live-cell imaging of endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*. **New phytologist**, London, UK, v. 182, n. 1, p. 213-228, Mar. 2009a. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2008.02743.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02743.x).

\_\_\_\_\_. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. **Annals of applied biology**, Wellesbourne, v. 155, n. 3, p. 391-401, Dec. 2009b. DOI: [10.1111/j.1744-7348.2009.00352.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00352.x).

MANNION, A. M; MORSE, S. Biotechnology in agriculture: agronomic and environmental considerations and reflections based on 15 years of GM crops. **Progress in physical geography: earth and environment**, Reading, v. 36, v. 6, p. 747-763, Aug. 2012. DOI: [10.1177/0309133312457109](https://doi.org/10.1177/0309133312457109).

MATSUKI, T. et al. The influences of jasmonic acid methyl ester on microtubules in potato cells and formation of potato tubers. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, Tokyo, v. 56, n. 8, p. 1.329-1.330, Feb. 1992. DOI: [10.1271/bbb.56.1329](https://doi.org/10.1271/bbb.56.1329).

MARTÍN-RODRÍGUEZ, J. A. et al. Role of gibberellins during arbuscular mycorrhizal formation in tomato: new insights revealed by endogenous quantification and genetic analysis of their metabolism in mycorrhizal roots. **Physiologia plantarum**, Lund, v. 154, n. 1, p. 66-81, May, 2015. DOI: [10.1111/pp1.12274](https://doi.org/10.1111/pp1.12274).

- MARTÍNEZ-MEDINA, A. et al. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 72, n. 2-3, p. 223-229, Feb. 2011. DOI: [10.1016/j.phytochem.2010.11.008](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.008).
- MISHRA, J.; SINGH, R.; ARORA, N. K. Alleviation of heavy metal stress in plants and remediation of soil by rhizosphere microorganisms. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 8, n. 1.706, Sept. 2017. DOI: [10.3389/fmicb.2017.01706](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01706). Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5592232/>>. Acesso em: 03 Jan. 2018.
- OGGERIN, M. et al. Specific jarosite biomineralization by *Purpureocillium lilacinum*, an acidophilic fungi isolated from Rio Tinto. **Environmental microbiology**, Oxford, v. 15, n. 8, p. 2.228-2.237, Jan. 2013. DOI: [10.1111/1462-2920.12094](https://doi.org/10.1111/1462-2920.12094).
- OZALVO, R. et al. Two closely related members of Arabidopsis 13-lipoxygenases (13-LOXs), LOX3 and LOX4, reveal distinct functions in response to plant-parasitic nematode infection. **Molecular plant pathology**, Oxford, v. 15, n. 4, p. 319-332, May 2014. DOI: [10.1111/mpp.12094](https://doi.org/10.1111/mpp.12094).
- OWNLEY, B. H.; GWINN, K. D.; VEGA, F. E. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. In: ROY, H. E. et al. (Ed.). **The Ecology of fungal entomopathogens**. Dordrecht: Springer, 2010. p. 113-128. DOI: 10.1007/978-90-481-3966-8\_9.
- PARMESAN, C.; YOHE, G. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. **Nature**: internacional journal of science, Basingstoke, v. 421, p. 37-42, Jan. 2003. DOI: [10.1038/nature01286](https://doi.org/10.1038/nature01286).
- PEDRAS, M. S. C.; MONTAUT, S. Probing Crucial Metabolic Pathways in Fungal Pathogens of Crucifers: Biotransformation of Indole-3-Acetaldoxime, 4-Hydroxyphenylacetaldoxime, and Their Metabolites. **Bioorganic & medicinal chemistry**, Oxford, v. 11, n. 14, p. 3.115-3.120, July 2003. DOI: [10.1016/S0968-0896\(03\)00241-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(03)00241-4).
- PINEDA, A. et al. Beneficial microbes in a changing environment: are they always helping plants to deal with insects. **Functional ecology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 374-586, June 2013. DOI: [10.1111/1365-2435.12050](https://doi.org/10.1111/1365-2435.12050).
- PINGALI, P. Green revolution: impacts, limits, and the path ahead. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Cambridge, MA, v. 109, n. 31, p. 12.302-12.308, July 2012. DOI: [10.1073/pnas.0912953109](https://doi.org/10.1073/pnas.0912953109).
- RAGHAVENDRA, A. S. et al. ABA perception and signalling. **Trends in plant science**, Oxford, v. 15, n. 7, p. 395-401, July 2010. DOI: [10.1016/j.tplants.2010.04.006](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.04.006).
- RHODES, L. H.; GERDEMANN, J. W. Hyphal translocation and up-take of sulfur by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion. **Soil, biology and biochemistry**, Amsterdam, v. 10, n. 5, p. 355-360, 1978. DOI: [10.1016/0038-0717\(78\)90057-3](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90057-3).
- SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. **American journal of botany**, St. Louis, v. 99, n. 1, p. 101-107, Jan. 2012. DOI: [10.3732/ajb.1100136](https://doi.org/10.3732/ajb.1100136).



SEARCHINGER, T. et al. **Creating a sustainable food future**: a menu of solutions to sustainably feed more than 9 billion people by 2050. World resources report 2013-14: interim findings. Washington, DC: World Resources Institute, 2014. 154 v.

VEGA, F. E. Insect pathology and fungal endophytes. **Journal of invertebrate pathology**, New York, v. 98, n. 3, p. 277-279, July 2008. DOI: [10.1016/j.jip.2008.01.008](https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.008).

VIERHEILIG, H. et al. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. **Applied environmental microbiology**, Washington, DC, v. 64, n. 12, p. 5.004-5.007, Dec. 1998. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/64/12/5004.full#cite-by>>. Acesso em: 15 Out. 2017.

WASTERNAK, C.; HAUSE, B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. **Annals of botany**, Oxford, v. 111, n. 6, p. 1.021-1.058, June 2013. DOI:10.1093/aob/mct067.

WESEMAEL, W. M. L.; VIAENE, N.; MOENS, M. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. **Nematology**, Leiden, v. 13, n. 1, p. 3-16, Jan. 2011. DOI: 10.1163/138855410X526831.

ZAVALA-GONZALES, E. A. et al. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. **Annals of applied biology**, Wellesbourne, v. 166, n. 3, p. 472-483, May 2015. DOI: [10.1111/aab.12199](https://doi.org/10.1111/aab.12199).

ZHANG, X. et al. Identification of a new potential Cd-hyperaccumulator *Solanum photeinocarpum* by soil seed bank-metal concentration gradient method. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v. 189, n. 1-2, p. 414-419, May 2011. DOI:10.1016/j.jhazmat.2011.02.053.

ZELICOURT, A. D.; AL-YOUSIF, M.; HIRT, H. Rhizosphere microbes as essential partners for plant stress tolerance. **Molecular plant**, Oxford, v. 6, n. 2, p. 242-245, Mar. 2013. DOI: [10.1093/mp/sst028](https://doi.org/10.1093/mp/sst028).

### **CAPÍTULO 3: FUNGOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO VEGETAL E BIOCHAR NA FITOEXTRAÇÃO DE COBRE, MANGANÊS E ZINCO POR *JACARANDA MIMOSIFOLIA* D. DON**

#### **1 RESUMO**

O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de mudas de *Jacaranda mimosifolia* D. Don de extrair metais pesados (Cu, Zn e Mn) em colunas de solo sob aplicação de consórcio com cinco fungos promotores de crescimento vegetal (FCPV) e de biochar. Na parte aérea e no solo, foram pulverizados uma suspensão contendo os cinco isolados fúngicos: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*. Os tratamentos com biochar originado da pirólise da serragem de madeira receberam 1% (m/v) na superfície da coluna. Aplicaram-se tratamentos com contaminação de Cu, Mn e Zn e com solo não contaminado. Após 45 dias de crescimento, foram avaliados a massa de parte aérea e de raízes; concentração de Cu, Mn e Zn na parte aérea, nas raízes, no solo e no lixiviado; a fertilidade do solo; e parâmetros fotossintéticos. As médias foram submetidas à análise de variância e Teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). O delineamento utilizado foi o em blocos casualizados, com seis repetições. Os FCPV condicionaram o crescimento das raízes e o desenvolvimento da parte aérea das mudas sobre solo contaminado, assemelhando estatisticamente as mudas crescidas no solo sem contaminação. Os fungos e o biochar aumentaram o potencial de fitorremediação, principalmente Mn e Zn. Além disso, a combinação de FPCV e biochar diminui a lixiviação de Cu, Mn e Zn. A planta utilizada mostrou ser um potencial instrumento de retirada de metais pesados no solo, principalmente por não apresentar reflexos negativos na sua atividade fotossintética e conseqüentemente não influenciando no seu crescimento. Além disso, a aplicação dos FPCV e do biochar melhoram a eficiência da fitorremediação, concentrando os metais nos tecidos vegetais e diminuindo os riscos de lixiviação.

**Palavras-chave:** Fitorremediação. Metais pesados. Biochar. Crescimento de raízes.

## 2 ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the ability of seedlings of *Jacaranda mimosifolia* D. Don to extract heavy metals (Cu, Zn and Mn) in soil under application of a consortium with five fungi plant growth promoters (FCPV) and of biochar. On the shoot and on the soil, were sprayed a solution containing the five fungal isolates: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* and *Trichoderma asperella*. The treatments with biochar originated from the pyrolysis of sawdust received 1% (m/v) on the surface of the column. Applied treatments with contamination of Cu, Mn and Zn and with uncontaminated soil. After 45 days of growth, were evaluated mass of shoot and roots; concentration of Cu, Mn and Zn in aerial, roots in the soil and leachate; soil fertility; and photosynthetic parameters. The averages were subjected to analysis of variance and Scott-Knott test ( $p < 0.05$ ). The experimental design used was the randomized block, with six repetitions. The FCPV have conditioned the growth of roots and the development of the shoot of seedlings on contaminated soil, statistically resembling the seedlings grown in soil without contamination. Fungi and biochar increased the potential of phytoremediation, primarily Mn and Zn. In addition, the combination of FPCV and biochar decreases leaching of Cu, Mn and Zn. The plant used has proved to be a potential tool for removal of heavy metals in the soil, especially for not presenting negative reflexes in your photosynthetic activity and consequently not influencing in your growth. In addition, the application of the FPCV and biochar improves the effectiveness of phytoremediation, concentrating the metals in plant tissues and reducing the risk of leaching.

**Keywords:** Phytoremediation. Heavy metals. Biochar. Root growth.

### 3 INTRODUÇÃO

A intensidade de uso de muitos metais vem aumentando desde a primeira revolução industrial (DIXIT et al., 2015; PAZ-FERREIRO et al., 2014). A evolução de tecnologias resultou no uso de elementos químicos cada vez mais diversos. E os metais pesados têm se acumulado em diferentes locais no planeta devido à mineração, galvanoplastia, aplicação recorrente de alguns pesticidas, tráfego de automóveis, aplicação no solo de fertilizantes, lodo de esgoto e dejetos de animais, que são fontes antropogênicas (WUANA; OKIEIMEN, 2011). A contribuição na contaminação ambiental por fontes naturais, como meteorização de minerais, atividade vulcânica e erosão, é diminuta em comparação às fontes antropogênicas (DIXIT et al., 2015).

A contaminação por metais pesados, até mesmo em baixas concentrações, afeta a capacidade produtiva dos solos, a biota do ecossistema, a qualidade da água e traz riscos à saúde humana e animal (MEMON; SCHRODER, 2009; ALI; KHAN; SAJAD, 2013). Ao contrário de substâncias orgânicas que podem ser degradadas na natureza, os metais pesados tendem a se acumular no ambiente (PAZ-FERREIRO et al., 2014). A remoção de metais pesados do solo é difícil por sua ligação à matriz do solo por adsorção, influenciada, principalmente por propriedades físico-químicas do solo, como quantidade de matéria orgânica, pelo teor da fração argila, pelos minerais que o compõe e pelo pH (DUBE et al., 2001). Assim, a biodisponibilidade dos metais no solo é um dos principais fatores que interferem na eficiência da remediação de metais pesados (ALI; KHAN; SAJAD, 2013).

Alguns íons metálicos são considerados essenciais para as plantas, como o cobre (Cu) e o zinco (Zn), por terem funções importantes para o crescimento das plantas e manutenção do metabolismo delas. Entretanto, é necessário que ressaltar que esses elementos, em excesso, afetam negativamente o crescimento das plantas por propiciarem efeitos no processo de fotossíntese (PILON et al., 2006), como a redução da eficiência no transporte dentro da cadeia de elétrons e da atividade do fotossistema II (PSII) (JANIK et al., 2010).

Vários processos físico-químicos, de remediação de solos contaminados por metais, têm sido desenvolvidos, como a vitrificação *in situ*, solidificação e lavagem do solo (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; WUANA; OKIEIMEN, 2011), porém apresentam alto custo e promovem efeitos negativos para propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (THAKUR et al., 2016). Além disso, os métodos químicos podem gerar subprodutos prejudiciais ao meio (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; FOMINA; GADD, 2014).

Por isso, o uso de organismos vivos, como o emprego de plantas, é uma das alternativas para descontaminação de solos. A fitorremediação pode envolver diferentes mecanismos, como acúmulo e estabilização nas raízes ou na parte aérea e a fitoextração por meio da parte aérea da planta (THAKUR et al., 2016). Dentre as espécies de plantas, existem algumas consideradas como hiperacumuladoras, pelo fato de absorverem e acumularem em seus tecidos aéreos uma quantidade muito maior de íons de metais pesados em comparação com plantas ditas não acumuladoras (VAN DER ENT et al., 2013). As plantas hiperacumuladoras podem acumular de 50 a 100 vezes mais metais pesados em seus tecidos (MCGRATH; ZHAO 2003; RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011; THAKUR et al., 2016) do que as demais. Além disso, apresentam uma excelente capacidade de translocarem, após a absorção pelas raízes, os metais pesados para a biomassa acima do solo (fator de translocação  $> 1$ ) (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011) e de bioconcentrar os íons metálicos em seus tecidos vegetais. Esse potencial é fundamental para a seleção de plantas com o objetivo de fitorremediação de metais pesados (WU et al., 2011).

Uma das formas de favorecer a fitorremediação é condicionar o meio para o melhor desenvolvimento vegetal, p. ex., com o uso de condicionadores do solo. A utilização de fungos promotores do crescimento vegetal (FPCV) pode aumentar a fitoextração de metais pesados pelas plantas pelo fato de proporcionarem aumento no sistema de raízes (MACIÁ-VICENTE et al., 2009; JABER; ENKERLI, 2016). Esse maior desenvolvimento de raízes é devido provavelmente à capacidade de esses fungos produzirem auxinas (LIAO et al., 2014) e também induzirem a regulação de genes vegetais envolvidos na síntese de fitohormônios (MACIÁ-VICENTE et al., 2009; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014). Além do melhor desenvolvimento vegetal, alguns desses fungos promovem a adsorção de metais pesados em grupos funcionais na parede celular e em substâncias poliméricas extracelulares (OGGERIN et al., 2013; MISHRA; SINGH; ARORA, 2017). Dessa forma, os FPCV podem reduzir o estresse para o fungo e para a planta.

Outro condicionador do solo que vem ganhando interesse é o biochar. O biochar é um produto da pirólise de matéria orgânica, que resulta em um elevado teor de carbono estável (70-80 %) e resistência à decomposição microbiana (LEHMANN; JOSEPH, 2009). Tal composto apresenta elevada área superficial, porosidade e capacidade de adsorver compostos de carga negativa ou positiva, podendo reduzir a lixiviação de contaminantes e nutrientes (DOWNIE; CROSKY; MUNROE, 2009). Os possíveis mecanismos sugeridos para a imobilização de metais pesados pelo biochar são principalmente as interações eletrostáticas, troca iônica, complexação, além de precipitação e adsorção (CAO; HARRIS, 2010; UCHIMIYA et al., 2010). Dessa forma, além de reduzir a lixiviação de metais, o biochar pode diminuir o estresse

da planta fitorremediadora por reduzir a biodisponibilidade de metais em altas concentrações, o que atenua o efeito fitotóxico das contaminações do solo (AL-WABEL et al., 2015).

Considerando o potencial de se aplicar condicionadores do solo para melhorar a fitorremediação, o presente artigo teve como objetivo avaliar a fitoextração e a fitotoxicidade de Cu, Mn e Zn utilizando o Jacarandá Mimoso (*Jacaranda mimosifolia* D. Don), sob a aplicação de biochar e de um consórcio com cinco isolados fúngicos: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Ensaios em casa-de-vegetação

Um ensaio de fitorremediação em colunas de solo, com tratamentos de cultivo de mudas de Jacarandá mimoso (*Jacaranda mimosifolia* D. Don) sob aplicação de fungos promotores de crescimento vegetal e biochar (TABELA 1).

**TABELA 1-** Tratamentos empregados no ensaio para fitorremediação de solo contaminado com metais pesados, com aplicação de cinco isolados fúngicos promotores de crescimento vegetal e e biochar como condicionadores do solo.

Tratamento	Sigla
Solo testemunha	T
Solo controle com jacarandá	TJ
Solo contaminado <sup>1</sup>	C
Solo contaminado <sup>1</sup> com jacarandá	CJ
Solo contaminado <sup>1</sup> com consórcio fúngico <sup>2</sup>	CF
Solo contaminado <sup>1</sup> com jacarandá e com consórcio fúngico <sup>2</sup>	CJF
Solo contaminado <sup>1</sup> com jacarandá e biochar	CJB
Solo contaminado <sup>1</sup> com jacarandá, consórcio fúngico <sup>2</sup> e biochar	CJFB

Ensaio com delineamento em blocos, com seis repetições. <sup>1</sup>Solo contaminado com Cu, Mn e Zn.

<sup>2</sup>Cinco isolados fúngicos da empresa Biosag®: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella*.

As colunas de polietileno tereftalato (PET) utilizadas receberam 1,2 dm<sup>3</sup> de solo cada uma. O solo utilizado no experimento foi coletado em agosto/2017 em uma área de Latossolo

vermelho distrófico típico, argiloso (TABELA 2), utilizado para culturas anuais, localizado no bioma Cerrado, no estado de Minas Gerais, Brasil (18° 57' 34" S; 48° 12' 05" W). As mudas foram conduzidas por quarenta e cinco dias.

**TABELA 2-** Fertilidade inicial do solo coletado para posterior uso como substrato para o plantio das mudas de *Jacaranda mimosifolia* D. Don

pH	C.O	Ca	Mg	K	Al	H+Al	CTC
	dag Kg <sup>-1</sup> solo			cmol <sub>c</sub> kg <sup>-3</sup> solo			
5,8	2,2	3	0,9	0,2	0,1	4,2	8,3

#### 4.2 Contaminação do solo com os metais pesados

Para contaminação das colunas com metais pesados, foram aplicados 25 mL por coluna de solo de cada uma das soluções: CuSO<sub>4</sub> . 5H<sub>2</sub>O (37,75 mg mL<sup>-1</sup>), ZnCl<sub>2</sub> (45,03 mg mL<sup>-1</sup>) e KMnO<sub>4</sub> (41,42 mg mL<sup>-1</sup>). Isso resultou em uma adição de 200 mg de Cu, 450 mg de Mn e 450 mg de Zn a cada litro de solo.

#### 4.3 Mudanças de Jacarandá mimoso

As mudas de Jacarandá mimoso foram cedidas pelo Horto Municipal de Uberlândia e foram inicialmente agrupadas em 6 blocos de acordo com a altura (do colo do caule até a inserção da folha mais jovem). Antes de serem semeadas em garrafas PET, elas foram retiradas do saches e tiveram o máximo de substrato removido de suas raízes, com auxílio de água. As mudas de cada bloco receberam os tratamentos TJ, CJ, CJF, CJB e CJFB. Cada parcela foi irrigada diariamente com 100 mL de água. Após o plantio das mudas, o solo foi adubado com 300 mg L<sup>-1</sup> de Nitrogênio, 300 mg L<sup>-1</sup> de Fósforo, 600 mg L<sup>-1</sup> de Potássio, 500 mg L<sup>-1</sup> de Carbonato de Cálcio e 80 mg L<sup>-1</sup> de Enxofre, por meio da adição de sais.

#### 4.4 Inóculo do consórcio de fungos promotores do crescimento vegetal (FPCV)

Os isolados *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperella* foram cedidos pela empresa BIOSAG - Comércio e Serviços Agrícolas Ltda.

O conteúdo de cada frasco do produto Biosag, com um dos cinco isolados fúngicos, foi homogeneizado em 500 mL de água destilada com auxílio de um liquidificador. Antes da inoculação dos fungos no solo e nas mudas de Jacarandá, procedeu-se a determinação da concentração de esporos por mL para cada isolado pela contagem em câmara de Neubauer. Após a contagem, as cinco suspensões de isolados fúngicos foram reunidas, resultando em um volume final de 2,5 L e concentração de esporos de  $4,20 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$  de *Beauveria bassiana*,  $7,45 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$  de *Metarhizium anisopliae*,  $5,35 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$  de *Pochonia chlamydosporia*,  $3,65 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$  de *Purpureocillium lilacinum* e  $3,12 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$  de *Trichoderma asperella*.

Dessa solução final, 20 ml foram inoculados na superfície do solo para cada coluna de solo nos tratamentos com tais microrganismos. Para a aplicação foliar, a suspensão de esporos de 2,5 L (com os cinco isolados fúngicos) foi diluída na proporção 1:100 com água destilada, sendo pulverizados 5 mL em cada muda com tratamento de inoculação dos fungos. Após 28 dias da primeira aplicação foliar, foi realizada outra com o mesmo volume por planta.

#### 4.5 Biochar

O biochar utilizado no trabalho foi cedido pelo grupo de pesquisa em Recursos Naturais e Agrícolas- RENAGRI. O grupo produziu o biocarvão por meio de combustão incompleta pelo processo de pirólise lenta, em forno térmico com dois cilindros, adaptado de um modelo amplamente utilizado por agricultores tailandeses (PRAKONGKEP; GILKES; WIRIYAKITNATEEKUL, 2015).

A fonte de biomassa utilizada na produção do biochar foi o resíduo do beneficiamento da madeira (Serragem de eucalipto) da indústria madeireira do Município de Monte Carmelo-MG.

#### 4.6 Fotossíntese

Com o objetivo de se avaliar o nível de estresse da planta frente às contaminações, foram determinadas 5 variáveis de fluorescência da clorofila, que são relacionadas com a eficiência da fotossíntese, empregando-se o equipamento FluorCam 7. As variáveis analisadas foram: fluorescência mínima em estado de adaptação ao escuro ( $F_0$ ), máxima fluorescência em estado de adaptação ao escuro ( $F_m$ ), rendimento quântico máximo ( $F_v/F_m$ ), quenching não-fotoquímico (NPQ), taxa de declínio de fluorescência em estado estacionário (Rfd) e eficiência operacional de PSII [ $(F_m' - F')/ F_m'$ ]. Além disso, também se determinou o teor relativo de



clorofila obtido pelo clorofilômetro SPAD- 502. Para as análises, as folhas foram submetidas ao escuro por 20 minutos.

#### **4.7 Crescimento vegetal**

Os parâmetros de desenvolvimento vegetal (massa fresca e seca da parte aérea e das raízes) foram avaliados após 45 dias do plantio nas colunas de solo. Para determinação da massa seca, as amostras foram colocadas em uma estufa a 60 °C, por um período de 72 horas, e depois pesadas em uma balança analítica.

#### **4.8 Análise química do solo**

Após a coleta do material vegetal dos vasos, separou-se o solo dos resíduos vegetais, de cada parcela, com o auxílio de uma peneira de 2 mm, e após esse procedimento, foi feita a homogeneização do material e coletado uma amostra de 300 g de solo. As análises químicas do solo foram realizadas de acordo com Silva (2009). O pH foi medido em água (1: 2,5). A acidez potencial foi obtida pelo método do tampão SMP (SILVA, 2009). Ca e Al foram extraídos com KCl 1M. O Ca foi determinado por espectrofotômetro de absorção atômica e Al por titulação com NaOH 0,025M (SILVA, 2009). P e K foram extraídos pela solução de Mellich (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,025M e HCl 0,05M). P foram determinados em espectrofotômetro (725 nm) e K em fotômetro de chama. O N do solo foi medido pelo método de Kjeldahl com destilação a vapor. O carbono orgânico (CO) foi determinado pelo método de digestão sulcrocromica e medição em espectrofotômetro (650 nm).

#### **4.9 Metais pesados no tecido vegetal**

Os teores de Cu, Mn e Zn foram determinados nas raízes e folhas por digestão nitroperclórica e leitura por espectrofotometria de absorção atômica (SILVA, 2009). O total de metais acumulados, nos tecidos vegetais, foi calculado multiplicando-se o teor do metal pela massa seca do tecido vegetal.

#### 4.10 Metais pesados nos lixiviados

Os lixiviados foram coletados diariamente em todas as colunas e conservados até a análise, com adição de HNO<sub>3</sub>, até atingir pH abaixo de 3. Para a leitura, as amostras foram filtradas utilizando papel filtro faixa azul (Ø = 11 µm) e lidas em espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP- OES 5100, Agilent Technologies). O total de metais acumulados no lixiviado foi calculado multiplicando-se a concentração no lixiviado pelo volume total de lixiviado produzido nos 45 dias de ensaio.

#### 4.11 Fatores de bioconcentração (FB), translocação (FT) e lixiviação (FL)

A quantificação da eficiência da retirada de metais pesados do solo é feita a partir do cálculo dos fatores de bioconcentração (FB) e de translocação (FT). O primeiro indica a eficiência da planta de acumular íons metálicos em seus tecidos (LADISLAS et al., 2012), sendo calculado a partir da seguinte fórmula (WILSON; PYATT, 2007):

$$FBC = \frac{\text{Concentração de metal no tecido vegetal}}{\text{Concentração de metal no solo}}$$

O FT mostra a capacidade da planta em translocar o metal retido em suas raízes para a biomassa acima do solo, sendo calculado da seguinte fórmula (ZACCHINI et al., 2009):

$$FT = \frac{\text{Concentração de metal nos tecidos da parte aérea}}{\text{Concentração de metal nas raízes}}$$

Foi proposto aqui o fator de lixiviação (FL) para avaliar o quanto de contaminante percolou pelo perfil do solo, sendo calculado a partir da seguinte fórmula:

$$FL = \frac{\text{Concentração de metal no lixiviado}}{\text{Concentração de metal no solo}}$$

## 4.12 Estatística

O delineamento experimental do ensaio foi em blocos casualizados, com seis repetições. A ocorrência de outliers, o teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias dos tratamentos ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) e o teste de Anderson-Darling, para averiguar se os resíduos de cada variável apresentavam distribuição normal ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) foram determinados com o programa ACTION 2.9. As variáveis paramétricas tiveram as médias submetidas à análise de variância (teste de Levene,  $p < 0,05$ ) e teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa Sisvar. Para as variáveis não paramétricas, foi aplicado o teste não paramétrico de Friedman, utilizando o programa ACTION 2.9 ( $p < 0,05$ ) para verificar diferenças entre as médias.

Com relação as variáveis relacionadas com a fluorescência da clorofila, utilizou-se a análise de componentes principais (PCA) para avaliar as associações entre as variáveis de fotossíntese e reduzir a parametrização excessiva do modelo. Durante as análises exploratórias anteriores,  $F_v / F_m$  foi removido devido à sua multicolinearidade com  $F_m$  (correlação = 0,69) e  $(F_m - F'_m) / F_m'$  (correlação = 0,74). Após a redução da dimensionalidade, se removeu a NPQ porque se tornou altamente correlacionada com  $F_m$  e apresentou baixa contribuição para a variação explicada.  $(F_m - F'_m) / F_m'$ ,  $F_m$ ,  $F_0$  e  $R_{fd}$  foram as melhores variáveis explicativas nos dois primeiros eixos de PC, que continham 71% da variação total (ver FIGURA 2 na seção Resultados). Utilizou essas variáveis para se ajustar a um modelo mixto linear multivariável (MLM) usando as variáveis de resposta previamente selecionadas. Os tipos de tratamento foram considerados como corrigidos enquanto o número individual e o bloqueio como efeitos aleatórios. Nós investigamos as diferenças de SPAD de acordo com os tratamentos, ajustando um MLM simples, no qual o bloco foi tratado como efeito aleatório. Em todas as análises, a exploração de dados foi realizada seguindo o protocolo introduzido por Zuur, Ieno e Elphick (2010). Examinou a homogeneidade das parcelas de valores ajustados versus valores residuais, parcelas quantile-quantile, histogramas e distância de Cook para validar os modelos lineares (ZUUR et al., 2009). Realizamos PCA usando pacotes veganos (OKSANEN et al., 2018) e FactoMineR (HUSSON et al., 2017) e MLMs usando lme4 (BATES et al., 2017) e carro (FOX et al., 2017). Todas as análises foram realizadas na versão R 3.4.3 (R Core Team 2017).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Desenvolvimento vegetal

As plantas crescidas em solo contaminado (tratamento CJ) e com biochar (CJB) apresentaram menores massa fresca e seca de raízes e menor massa seca de parte aérea quando comparadas ao controle com solo não contaminado (TJ) (TABELA 3). No entanto, a inoculação do consórcio fúngico condicionou melhor crescimento de raízes e parte aérea, sendo estatisticamente iguais ao do tratamento controle, independente da presença do biochar (CJF ou CJFB).

**TABELA 3-** Variáveis de crescimento de plantas *Jacaranda mimosifolia* D. Don crescido em solo contaminado com metais e sob aplicação de isolados fúngicos e biochar.

Tratamento	MFPA	MFR	MSPA	MSR
	g			
TJ	21,68 (2,11) a	16,64 (5,48) a	13,76 (2,21) a	13,48 (4,06) a
CJ	16,19 (4,63) a	10,27 (0,32) b	10,04 (2,00) b	8,26 (1,20) b
CJF	24,61 (3,50) a	20,51 (5,29) a	13,51 (1,89) a	14,96 (2,34) a
CJB	19,73 (6,90) a	12,57 (3,03) b	11,38 (2,67) b	10,34 (2,42) b
CJFB	25,28 (0,78) a	16,66 (4,94) a	14,10 (0,99) a	12,51 (2,59) a

Médias (desvio padrão) (n=6) de variáveis das plantas de *J. mimosifolia* crescidas em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Scott- Knott). TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar. MFPA: Massa Fresca Parte Aérea; MFR: Massa Fresca Raízes; MSPA: Massa Seca Parte Aérea; MSR: Massa Seca Raízes.

### 5.2 Metais na planta

A aplicação do consórcio fúngico e de biochar nas plantas crescidas em solo contaminado (CFJ, CJB e CJFB) reduziu a concentração de cobre nas raízes ao nível das plantas controle (solo não contaminado), os quais apresentaram valores inferiores ao tratamento de solo contaminado e sem aplicação de condicionadores (CJ) (TABELA 4). O teor de Mn nas raízes não sofreu efeito dos tratamentos. As concentrações de Zn nas raízes dos tratamentos com solo contaminado não se diferiram, mas foram superiores ao solo controle.

**TABELA 4-** Teores dos metais pesados no sistema radicular de plantas *Jacaranda mimosifolia* D. Don crescendo em solo contaminado com metais e sob aplicação de isolados fúngicos e biochar.

Tratamento	Cu	Mn	Zn
	mg Kg <sup>-1</sup>		
TJ	44,83 (36,23) b	72,54 (28,96) a	17,74 (5,59) b
CJ	102,25 (31,42) a	186,00 (87,06) a	222,00 (142,55) a
CJF	53,25 (21,88) b	147,50 (235,14) a	197,50 (212,82) a
CJB	58,00 (17,98) b	110,00 (16,73) a	156,67 (48,44) a
CJFB	36,67 (4,51) b	55,00 (12,91) a	92,50 (33,04) a

Médias (desvio padrão) (n = 6) de teores dos metais pesados no sistema radicular das plantas de *J. mimosifolia* crescidas em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Scott- Knott). TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

As plantas crescidas em solo contaminado não apresentaram diferença no teor do Cu, Mn e Zn na parte aérea, independente dos tratamentos, mas com maior concentração em comparação ao solo não contaminado (TABELA 5).

**TABELA 5-** Teores dos metais pesados na parte aérea de *Jacaranda mimosifolia* D. Don crescendo em solo contaminado com metais e sob aplicação de isolados fúngicos e biochar.

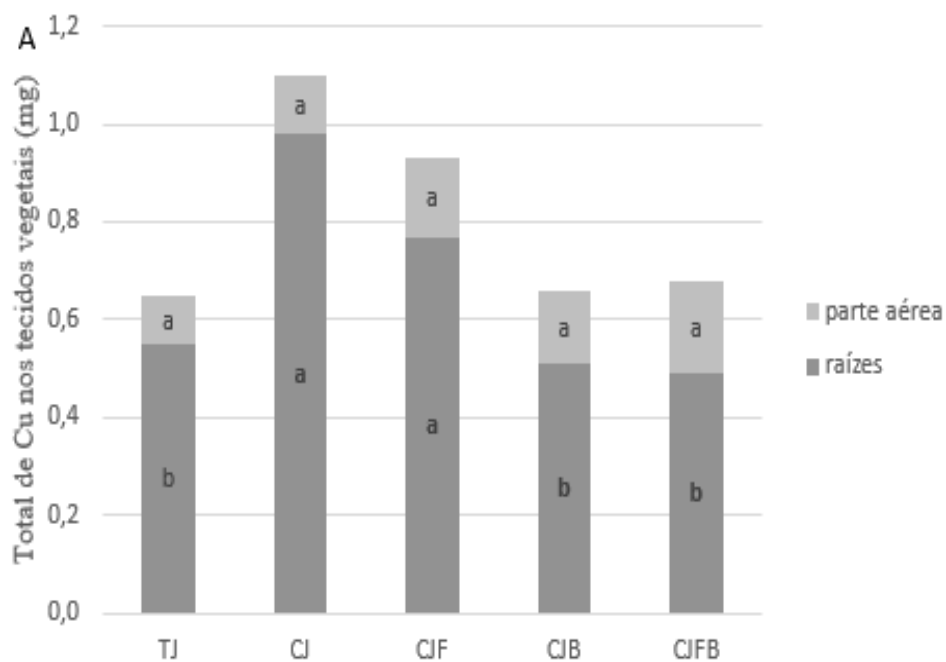
Tratamento	Cu	Mn	Zn
	mg Kg <sup>-1</sup>		
TJ	6,97 (1,95) b	26,94 (5,33) b	16,54 (1,31) b
CJ	12,08 (2,26) a	93,18 (47,36) a	76,48 (22,38) a
CJF	11,68 (3,99) a	136,68 (33,63) a	112,92 (44,35) a
CJB	12,41 (4,93) a	109,16 (37,34) a	92,12 (30,52) a
CJFB	17,39 (10,81) a	126,19 (83,79) a	62,34 (28,70) a

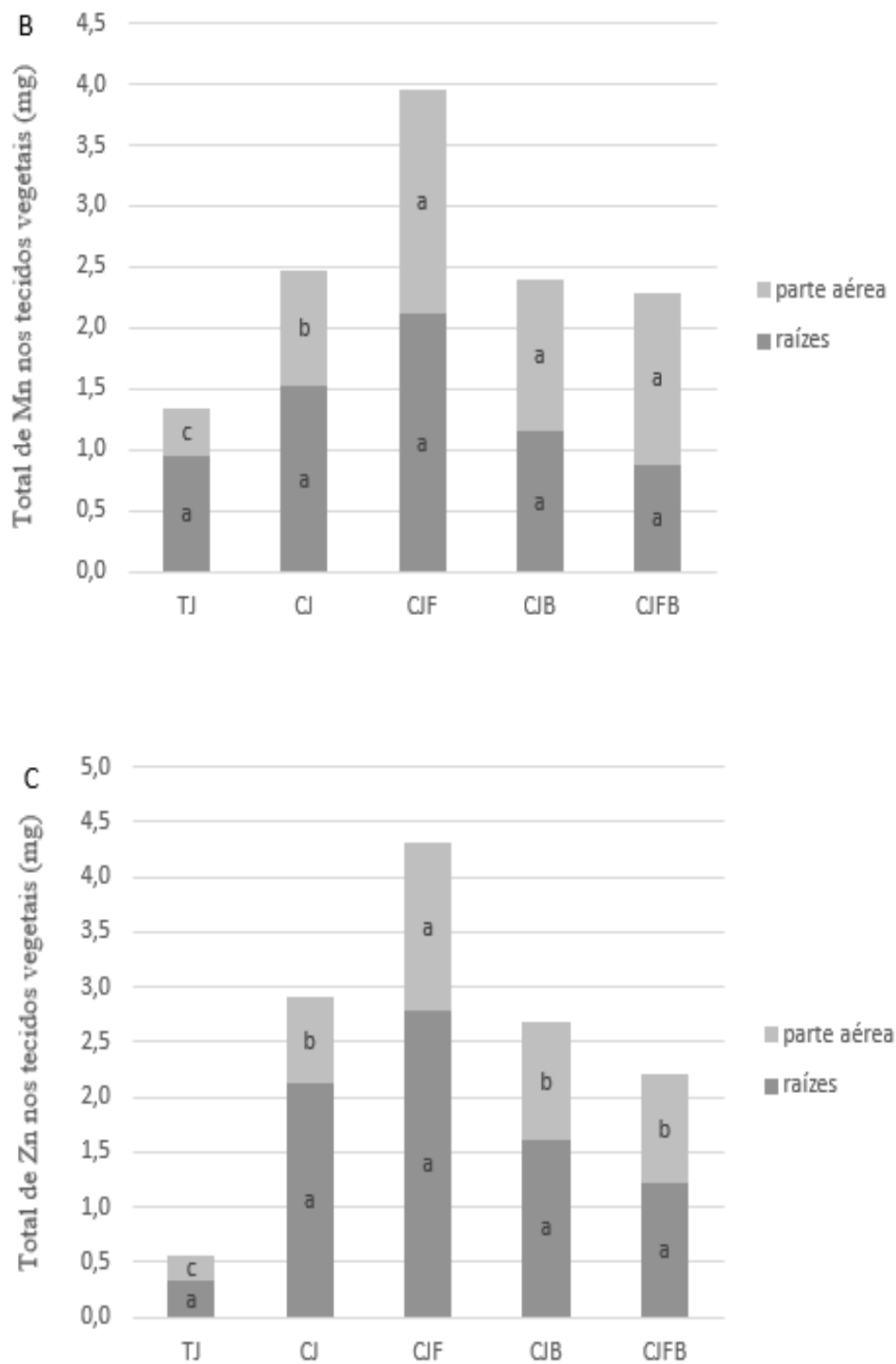
Médias (desvio padrão) (n = 6) de teores dos metais pesados em tecidos foliares nas plantas de *J. mimosifolia* crescidas em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Scott-Knott). TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

Por outro lado, os resultados de concentração total de metais acumulados foram diferentes daqueles observados para a concentração nos tecidos (FIGURA 1). Para o total acumulado nas raízes, apenas o Cu apresentou diferença estatística entre tratamentos. As plantas crescidas em solo contaminado (CJ) e contaminado com aplicação de consórcio fúngico (CJF) acumularam mais Cu do que os demais tratamentos (FIGURA 1a). O acúmulo de Cu na parte

aérea (FIGURA 1a) e de Mn e Zn nas raízes não diferiu entre os tratamentos (FIGURAs 1b e 1c).

A aplicação de fungos e biochar (CJF, CJB e CJFB) promoveu maior acumulação de Mn na parte aérea em comparação aos controles em solo contaminado (CJ) e não contaminado (TJ) (FIGURA 1B). O tratamento que mais acumulou Zn na parte aérea foi quando se inoculou o solo com os cinco isolados fúngicos (CJF) (FIGURA 1C). O jacarandá acumula mais Mn e Zn na parte aérea quando crescido em solo contaminado (CJ) em comparação ao solo natural (TJ).





**FIGURA 1-** Total de metais acumulado na parte aérea e raízes de Jacarandá mimosifolia (n=6). (A) Cobre; (B) Manganês, (C) Zinco. TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar. Letras minúsculas diferentes dentro das barras nos gráficos mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Scott- Knott). T: Solo testemunha; C: Solo Contaminado; CF: Solo contaminado com consórcio fúngico; TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

### 5.3 Metais no solo e lixiviado

O teor de Cu e de Zn no solo foram superiores nos tratamentos no solo contaminado em comparação aos tratamentos sem metais (TABELA 6). Os solos contaminados sem planta apresentaram menores teores de Cu, Mn e Zn do que os tratamentos com planta. Para Mn, observamos que as concentrações dos tratamentos com o consórcio fúngico em jacarandá foram superiores aos demais tratamentos (TABELA 6).

**TABELA 6-** Teores de metais pesados nos solos das colunas sob efeito de diferentes tratamentos.

Tratamento	Cu	Mn	Zn
		mg dm <sup>-3</sup>	
T	2,08 (1,03) c	9,00 (1,66) c	1,53 (0,63) c
TJ	3,65 (3,61) c	15,23 (4,67) c	1,64 (0,67) c
C	25,75 (0,95) b	13,58 (1,97) c	20,26 (1,89) b
CF	32,17 (0,85) a	19,78 (6,84) c	29,22 (3,70) a
CJ	32,60 (0,62) a	37,80 (19,10) b	30,00 (3,22) a
CJF	32,03 (1,77) a	62,68 (15,13) a	30,43 (0,84) a
CJB	30,02 (3,41) a	35,07 (12,12) b	26,48 (2,60) a
CJFB	30,18 (1,53) a	48,50 (9,65) a	27,60 (0,52) a

Médias (desvio padrão) (n = 6) de teores dos metais pesados nos solos das colunas do experimento realizado em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Scott- Knott). T: Solo testemunha; C: Solo Contaminado; CF: Solo contaminado com consórcio fúngico; TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

Os maiores valores de total de Cu acumulado nos lixiviados ocorreram nos tratamentos com jacarandá no solo contaminado (CJ) e jacarandá em solo contaminado inoculado com consórcio fúngico (CJF) (TABELA 7). O total de Cu lixiviado mesmo no solo contaminado sem planta (C) foi mínimo e não diferiu do controle não contaminado (T). O total de Mn e Zn foi maior no lixiviado dos solos contaminados quando comparado aos tratamentos não contaminados. No entanto, a presença de plantas com adição de biochar e consórcio fúngico (CJFB) em solo contaminado diminuiu o total de Cu, Mn e Zn no lixiviado, chegando ao mesmo nível dos tratamentos não contaminados. Esse resultado indica o potencial do tratamento de inibir a lixiviação de metais e a contaminação de águas subterrâneas.



**TABELA 7-** Total dos metais pesados nos lixiviados coletados das colunas sob efeito de diferentes tratamentos.

Tratamento	Cu	Mn	Zn
	μgrama		
T	8,95 (4,05) c	82,48 (63,98) b	97,96 (2,67) b
C	14,68 (4,76) c	6791,51 (8960,19) a	15922,42 (20415,01) a
CF	152,08 (55,03) b	1621,17 (1086,23) a	2319,86 (1015,75) a
TJ	4,05 (3,66) d	9,00 (4,84) c	25,01 (14,17) b
CJ	523,72 (236,07) a	1246,58 (1266,20) a	3376,33 (2381,84) a
CJF	678,43 (993,39) a	1500,95 (1108,49) a	4148,80 (5629,72) a
CJB	232,23 (215,28) b	1506,12 (1817,50) a	1902,03 (2045,61) a
CJFB	24,59 (11,19) c	266,37 (213,99) b	164,53 (143,57) b

Médias (desvio padrão) (n=6) dos totais dos metais pesados nos lixiviados coletados das colunas do experimento realizado em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos (p<0.05, teste de Scott- Knott). T: Solo testemunha; C: Solo Contaminado; CF: Solo contaminado com consórcio fúngico; TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

#### 5.4 Fatores de bioconcentração (FB), translocação (FT) e lixiviação (FL)

O fator de bioconcentração das plantas variou de 1,44 a 31,82 para o Cu, de 2,8 a 7,09 para o Mn e de 5,6 a 18,43 para o Zn (TABELA 8). No entanto, os tratamentos somente tiveram efeito no FB para Cu, onde plantas em solo não contaminado apresentaram maior média de FB (31.82) em comparação aos solos contaminados.

**TABELA 8-** Fator de Bioconcentração, utilizando a somatória das concentrações de metais na parte aérea e sistema radicular de plantas *Jacaranda mimosifolia* D. Don crescendo em solo contaminado com metais e sob aplicação de isolados fúngicos e biochar.

Tratamento	Cu	Mn	Zn
TJ	31,82 a	7,09 a	18,43 a
CJ	4,06 b	9,38 a	11,22 a
CJF	2,05 b	4,71 a	10,21 a
CJB	2,37 b	7,44 a	9,61 a
CJFB	1,44 b	2,88 a	5,60 a

Médias (desvio padrão) (n = 6) dos FBCs das plantas de *J. mimosifolia* crescidas em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos (p<0.05, teste de Scott- Knott). TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

Os valores de FT (relação da transferência dos metais das raízes para a parte aérea) variaram de 0,12 a 0,55 para Cu, 0,33 a 1,72 para Mn e 0,32 a 1,98 para Zn (TABELA 9). Com base nesses dados, observa-se que a transferência do Mn mostrou ser mais eficiente quando as plantas estiveram expostas aos fungos e biochar (CJF, CJB e CJFB); e a do Zn quando os solos foram inoculados os isolados fúngicos (CJF). O FT de Cu não mostrou diferença estatística entre os tratamentos.

**TABELA 9-** Fator de Translocação de plantas de *Jacaranda mimosifolia* D. Don crescido em solo contaminado com metais e sob aplicação de isolados fúngicos e biochar.

Tratamento	Cu	Mn	Zn
TJ	0,33 a	0,33 b	0,89 b
CJ	0,12 a	0,61 b	0,32 b
CJF	0,26 a	1,57 a	1,98 a
CJB	0,23 a	0,98 a	0,60 b
CJFB	0,55 a	1,72 a	0,69 b

Médias (desvio padrão) (n = 6) dos FTs das plantas de *J. mimosifolia* crescidas em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Scott- Knott). TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

O Fator de Lixiviação mostra o potencial de o metal se mover em profundidade em dada situação. Os maiores valores de FL para Cu ocorreram sob os tratamentos com jacarandá em solo contaminado (CJ), jacarandá em solo contaminado inoculado com o consórcio fúngico (CJF) e a planta em solo contaminado com biochar (TABELA 10). Por outro lado, o tratamento com jacarandá em solo contaminado e com adição dos isolados fúngicos e de biochar (CJFB) apresentaram os menores valores de FL de Zn, sendo iguais ao solo não contaminado com crescimento de jacarandá (TJ). Comparado às colunas com apenas solo contaminado (C), o tratamento CJFB reduziu o FL em mais de 200% para Zn (TABELA 10), sendo quem em um desses tratamentos houve a inoculação dos fungos, quando comparado ao tratamento com solo controle com plantas.

**TABELA 10-** Fator de Lixiviação (concentração de metal no lixiviado/concentração no solo) sob efeito de diferentes tratamentos.

Tratamento	Cu	Mn	Zn
T	0,0045 (0,0024) ab	0,008 (0,006) b	0,065 (0,022) ab
C	0,0004 (0,0001) b	0,288 (0,339) a	0,919 (1,140) a
CF	0,0040 (0,0003) ab	0,063 (0,035) a	0,074 (0,034) ab
TJ	0,0072 (0,0048) ab	0,004 (0,002) b	0,055 (0,008) ab
CJ	0,0158 (0,0020) a	0,041 (0,052) ab	0,098 (0,059) ab
CJF	0,0198 (0,0298) a	0,023 (0,015) ab	0,141 (0,189) ab
CJB	0,0111 (0,0079) a	0,034 (0,026) ab	0,109 (0,086) ab
CJFB	0,0067 (0,0086) ab	0,016 (0,008) ab	0,019 (0,008) b

Médias (desvio padrão) (n = 6) dos FL nos solos das colunas do experimento realizado em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Friedman para variáveis não paramétricas). T: Solo testemunha; C: Solo Contaminado; CF: Solo contaminado com consórcio fúngico; TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

## 5.5 Análise química do solo

O pH do solo, mesmo com a adição do biochar, não apresentou diferença entre os tratamentos. A concentração do Carbono Orgânico (C.O), juntamente com o H + Al, no tratamento CJF, foi estatisticamente superior aos demais tratamentos. O potássio, na presença dos condicionadores do solo aqui avaliados, diferiu positivamente sua concentração no solo em relação aos outros tratamentos. Na presença do consórcio fúngico, a concentração de Ca mostrou ser igual no solo controle com Jacarandá e superior aos demais (TABELA 11).

**TABELA 11-** Atributos da fertilidade do solo sob efeito de diferentes tratamentos.

Tratamento	pH	P	K	Ca	Mg	H + Al	C.O
		mg kg <sup>-3</sup>			cmolc kg <sup>-3</sup>		dag kg <sup>-1</sup>
T	6,10 (0,09) a	35,50 (17,14) b	0,19 (0,01) d	3,33 (0,48) b	0,85 (0,12) a	2,23 (0,61) c	1,09 (0,12) b
C	6,23 (0,05) a	44,57 (25,77) b	0,26 (0,05) c	3,03 (0,73) b	0,77 (0,18) a	1,68 (0,18) d	1,08 (0,15) b
CF	6,17 (0,16) a	42,67 (27,18) b	0,29 (0,02) c	3,13 (0,39) b	0,90 (0,13) a	2,05 (0,12) c	1,08 (0,03) b
TJ	6,18 (0,12) a	86,50 (5,71) a	0,43 (0,03) b	4,18 (0,36) a	0,90 (0,30) a	2,75 (0,27) b	1,21 (0,21) b
CJ	6,10 (0,10) a	79,15 (7,47) a	0,42 (0,08) b	2,88 (0,66) b	0,81 (0,21) a	2,66 (0,30) b	1,26 (0,16) b
CJF	6,13 (0,10) a	84,03 (16,20) a	0,56 (0,06) a	3,88 (0,84) a	0,99 (0,21) a	3,30 (0,14) a	1,49 (0,24) a
CJB	6,20 (0,09) a	86,90 (20,26) a	0,52 (0,05) a	2,80 (0,25) b	0,75 (0,13) a	2,62 (0,31) b	0,95 (0,09) b
CJFB	6,12 (0,08) a	80,76 (12,83) a	0,59 (0,03) a	3,16 (0,39) b	0,77 (0,13) a	2,87 (0,06) b	1,20 (0,10) b

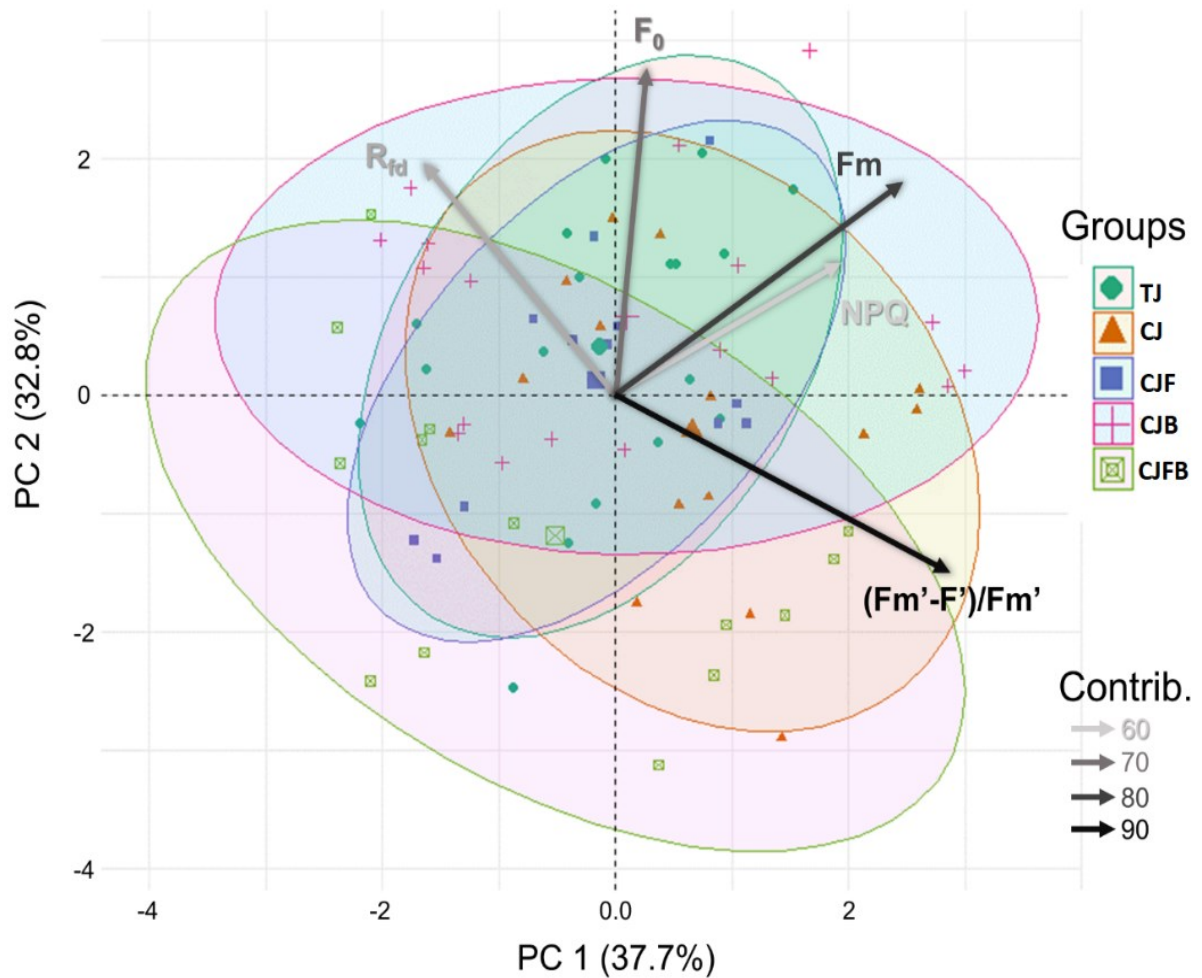
Médias (desvio padrão) (n = 6) de teores dos nutrientes nos solos das colunas do experimento realizado em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos (p<0.05, teste de Scott- Knott). T: Solo testemunha; C: Solo Contaminado; CF: Solo contaminado com consórcio fúngico; TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar.

## 5.6 Fotossíntese

A única variável que apresentou diferença estatística entre os tratamentos foi a fluorescência mínima em estado de adaptação ao escuro (F0), o qual indica estresse provocado por fatores ambientais. As plantas em solo contaminado (CJ) e aquelas em solo contaminado com adição de fungos e biochar (CJFB) apresentaram menor valor de F0, indicando estresse fotossintético provocado pelos metais no solo (TABELA 12).

Apesar das variáveis (Fm'-F ' ) / Fm', Fm, F0 e Rfd representaram a maior parte da variação de dados, elas não estavam relacionadas a nenhuma segregação grupal. O biplot da PCA ilustra a falta de diferença entre os altos grupos sobrepostos, especialmente quando se considera o grupo controle (FIGURA 2). Os resultados da MLM corroboram isso, sem diferenças significativas entre os tratamentos relativos aos parâmetros

fotossintéticos selecionados ( $\chi^2 = 7,53$ ;  $df = 4$ ;  $p = 0,111$ ). Os MLMs univariados nas seis variáveis de fotossíntese proporcionam resultados semelhantes (resultados não apresentados). O SPAD também não diferiu de acordo com os distintos grupos de tratamento ( $\chi^2 = 3,86$ ;  $df = 4$ ;  $p = 0,426$ ).



**FIGURA 2-** PCA biplot demonstrando contribuições de variáveis e os cinco grupos de tratamento formados ao longo dos dois primeiros eixos de PCs. As elipses compreendem 0,95 intervalos de confiança.

**TABELA 12-** Variáveis que indicam estresse biótico e abiótico de plantas de *Jacaranda mimosifolia* D. Don crescendo em solo contaminado com metais e sob aplicação de isolados fúngicos e biochar.

Tratamento	F0	Fm	Fv/Fm	NPQ	Rfd	(Fm'-F')/ Fm'	SPAD
TJ	58,13 (3,93) a	233,21 (32,79) a	0,75 (0,02) a	0,38 (0,14) a	3,18 (0,56) a	0,47 (0,02) a	26,39 (7,59) a
CJ	51,52 (1,44) b	253,13 (27,98) a	0,78 (0,01) a	0,34 (0,10) a	3,12 (0,75) a	0,53 (0,05) a	30,38 (8,83) a
CJF	55,47 (6,54) a	245,85 (33,92) a	0,77 (0,02) a	0,29 (0,05) a	3,36 (0,15) a	0,50 (0,04) a	30,64 (4,34) a
CJB	61,51 (5,09) a	250,21 (35,09) a	0,75 (0,04) a	0,32 (0,12) a	3,28 (0,32) a	0,48 (0,07) a	30,30 (9,25) a
CJFB	48,49 (3,87) b	205,41 (32,88) a	0,74 (0,05) a	0,25 (0,09) a	2,66 (0,34) a	0,50 (0,09) a	18,65 (3,50) a

Médias (desvio padrão) (n=6) de variáveis que indicam estresse biótico e abiótico nas plantas de *J. mimosifolia* crescidas em casa-de-vegetação. Letras minúsculas diferentes dentro da coluna mostram diferenças entre os tratamentos ( $p < 0.05$ , teste de Scott- Knott). TJ – Solo controle com Jacarandá; CJ- Solo contaminado com jacarandá; CJF- Solo contaminado com jacarandá e com consórcio fúngico; CJB- Solo contaminado com jacarandá e biochar; CJFB- Solo contaminado com jacarandá, consórcio fúngico e biochar. F0- fluorescência mínima em estado de adaptação ao escuro; Fm- máxima fluorescência em estado de adaptação sombria; Fv/Fm- rendimento quântico máximo; NPQ- apagamento não fotoquímico durante a adaptação da luz; Rfd- taxa de declínio de fluorescência em estado estacionário; (Fm'-F')/ Fm'- eficiência operacional de PSI; SPAD teor relativo de clorofila.

## 6 DISCUSSÃO

A inoculação do consórcio fúngico aumenta o potencial de fitorremediação pelo *Jacaranda mimosifolia* por mediar maior crescimento de raízes, maior acúmulo de Mn e Zn na planta, melhor translocação de Mn e Zn das raízes para a parte aérea, além de diminuir o estresse fisiológico (TABELA 12). Além disso, a combinação de aplicação de fungos e biochar nas mudas reduz o risco ambiental de contaminação por metais porque há redução no total lixiviado de Cu, Mn e Zn.

Os cinco fungos utilizados são ferramentas para a melhoria no desenvolvimento das plantas (SASAN; BIDOCHA, 2012; GIBSON et al., 2014; LIAO et al., 2014). Essa melhora é proporcionada pelo benefício à resposta inato-imune (BROTMAN et al., 2012; HERMOSA et al., 2013)

, devido a produção de ácido jasmônico (AS), ácido abscísico (ABA) e ácido salicílico (AS) (CONTRERAS-CORNEJO et al., 2011; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2011), e à maximização no desenvolvimento do sistema radicular (MACIÁ-VICENTE et al., 2009; JABER; ENKERLI, 2016). Esses cinco FPCV apresentam a capacidade de sintetizar auxinas (PEDRAS; MONTAUT, 2003; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2009; CAVELLO et al., 2015; ZAVALA-GONZALES et al., 2015; LIAO et al., 2017), fitohormônios relacionados com o aumento das raízes, e induzirem as plantas colonizadas a produzirem fitohormônios (MACIÁ-VICENTE et al., 2009; CONTRERAS-CORNEJO et al., 2011; KHAN et al., 2012; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014).

É provável que o melhor crescimento de raízes, mesmo com a possível inibição do crescimento radicular pelo excesso de zinco (VAILLANT et al., 2005), foi devido à produção de auxinas pelos fungos inoculados e ou devido à indução da síntese pelas plantas de tal fitohormônios. Importante destacar que o biochar não interferiu no efeito de crescimento de raízes. Outro fator que pode ter contribuído no desenvolvimento das plantas inoculadas mesmo na presença de metais pesados é a produção de ABA pelas plantas colonizadas pelo *Trichoderma* (RAGHAVENDRA et al., 2010). Este fitohormônio está relacionado à promoção do crescimento e desenvolvimento das plantas em situações de estresse por fatores abióticos.

O maior crescimento de raízes induzido pelos fungos resultou em maior potencial de translocação (FT) e acúmulo de Mn e Zn na parte aérea. Estudos relatando sobre a maior translocação de Mn e Zn, devido a maior biomassa do sistema radicular das plantas, são escassos.

Plantas consideradas hiperacumuladoras apresentam uma excelente capacidade de translocarem, após a absorção pelas raízes, os metais pesados para a biomassa acima do solo (fator de translocação  $> 1$ ) (RASCIO; NAVARI-IZZO, 2011). A FT para o Cu variou de 0,12 a 0,55 e não apresentou diferença estatística entre os tratamentos, e isso pode estar relacionado com um possível modo de defesa apresentado pelo *Jacaranda mimosifolia* para prevenir a intoxicação por tal elemento. O transporte reduzido dos metais para a parte aérea é uma estratégia utilizada pelas plantas, concentrando-os no sistema radicular por meio da compartimentalização sub-celular e diminuição da absorção via exsudação de compostos orgânicos secretados (CAMBROLLÉ et al., 2011). Outro resultado que ilustra essa possível explicação para o reduzido FT do Cu, foi a proporção entre o total do metal nas raízes e na parte aérea mostrada na FIGURA 1A. Mas também deve-se considerar o tempo de permanência em solo contaminado; no nosso caso, 45 dias de crescimento podem ter contribuído para pouca translocação de Cu para a parte aérea.

Um importante efeito relatado aqui é a diminuição do total de Cu, Mn e Zn lixiviados no tratamento com aplicação de fungos conjuntamente com o do biochar (CJFB) em comparação com os demais tratamentos com solo contaminado (TABELA 7). O biochar e os fungos aplicados isoladamente não apresentaram tal performance, demonstrando uma interação entre os dois condicionadores aplicados. Esse é um efeito que combina maior crescimento de raízes (TABELA 3) as propriedades do biochar de retenção de cátions e água (CAO; HARRIS, 2010; UCHIMIYA et al., 2010; RONDON et al., 2007; SOLAIMAN et al., 2010). Com menor movimentação de água e maior retenção de cátions, esse condicionador do solo pode ajudar a reduzir a mobilidade metais pesados. Como nos resultados apresentados aqui, a aplicação isolada de biochar pode não diminuir a lixiviação do metal. Em um solo cultivado com aveia (*Avena sativa L.*) e irrigado com águas residuais, a adição do biochar reduziu a absorção de Zn e Cd pela planta, entretanto, a percolação do Zn no solo aumentou (WAGNER; KAUPENJOHANN, 2014). Assim, sugere-se a combinação dos fungos e biochar na fitorremediação para reduzir a lixiviação de metais.

O menor valor de F0 em solo contaminado (CJ) em comparação ao solo não contaminado (TJ) indica que a contaminação com metais não afetou os centros de reações do fotossistema II (PS II) (BOLHAR-NORDENKAMPF et al., 1989), ao contrário do que foi visto em *Datura sanguinea* expostas ao zinco, onde o aumento dos valores de F0 foram relacionados com o aumento do estresse ocasionado pelo íon metálico (VAILLANT et al., 2005). Isso já foi relatado para algumas espécies de plantas: quando expostas a altas concentrações de Cu e Zn podem vir a ter a taxa de transferência de elétrons reduzida e a atividade do PS II comprometida (MALLICK; MOHN, 2003; JANIK et al., 2010). Além disso, o estresse gerado pelo zinco pode reduzir a condutância estomática, dentre outros fatores, pelo fato de alterar a concentração de ABA na planta, que controla o movimento dos estômatos (MARSCHNER, 1999).

As hifas fúngicas podem acumular metais por ligação de cargas em suas paredes celulares e impedir a concentração no tecido vegetal (MISHRA; MALIK et al., 2014; VIJAYARAGHAVAN; BALASUBRAMANIAN, 2015; AWASTHI et al., 2017), mas a concentração de metais nas raízes e parte aérea do tratamento inoculado (CJF) não diferiu das plantas sem inoculação em solo contaminado (CJ) (TABELAS 4 e 5). Portanto, mecanismos fisiológicos de proteção ao PSII desconhecidos podem ter desencadeado com a aplicação do consórcio fúngico. Considerando que o Ca tem papel importante na manutenção da estrutura do aparelho fotossintético (BARONA et al., 2001), a inoculação dos fungos pode ter influenciado na proteção fisiológica por meio do aumento dos teores de Ca e matéria orgânica no solo (TABELA 11).



Por meio da análise dos resultados FIGURA 2 e da TABELA 12, que apresentam dados relacionados com a fluorescência da clorofila, é possível afirmar que a planta não reduziu sua taxa fotossintética devido a concentração de íons metálicos presentes nos solos contaminados. Possivelmente, a planta utilizou de artifícios para evitar a redução da fotossíntese, como a compartimentalização sub-celular e redução da absorção via exsudação de compostos orgânicos secretados (CAMBROLLÉ et al., 2011).

Para entender melhor o estresse da contaminação sobre a planta, é importante investigar outros parâmetros fotossintéticos. A máxima eficiência quântica do PS II (Fv/Fm) já foi vista como um excelente indicador de estresse das plantas por diversos fatores ambientais (LIU et al., 2011; QIN et al. 2011). Nesse presente estudo, a relação Fv/Fm das plantas expostas aos diferentes tratamentos manteve-se estatisticamente igual às plantas cultivadas em solo controle (TABELA 12). Isso sugere pouco estresse gerado na planta pela adição dos metais pesados ao solo. Isso é corroborado pela não redução no teor relativo de clorofila no Jacarandá. Essa baixa fotoinibição indica o potencial de uso do Jacarandá para a fitoextração de metais por longos períodos. Já em outras plantas, a contaminação por metais do meio afeta a máxima eficiência quântica do PS II. Em videiras expostas a 23 mM de Cu, houve a redução de valores de Fv/Fm, reduzindo o carbono fixado nas plantas e diminuindo o crescimento (CAMBROLLÉ et al., 2015). Também há o relato de diminuição de Fv/Fm em *Spartina densiflora* quando expostas a Zn (MATEOS- NARANJO et al., 2008).

## 7 CONCLUSÃO

O Jacarandá Mimoso tem potencial de aplicação na remediação de metais pesados, principalmente pelo fato de não reduzir sua atividade fotossintética. A aplicação dos fungos e do biochar aumentaram o potencial de fitorremediação, por condicionar maior crescimento de raízes, maior acúmulo de Mn e Zn na planta, melhor translocação de Mn e Zn das raízes para a parte aérea. A aplicação conjunta de fungos e biochar nas mudas é recomendada por apresentar proteção à sua atividade fotossintética e por reduzir o risco ambiental de contaminação por metais pelo fato de resultar em redução no total lixiviado de Cu, Mn e Zn. É necessário ainda entender as influências do consórcio fúngico e do biochar na potencialização da fitorremediação a longo prazo, visto que esse experimento foi realizado dentro de um prazo de 45 dias

## REFERÊNCIAS

- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals - concepts and applications. **Chemosphere**, Oxford, v. 91, n. 7, p. 869-881, May 2013. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2013.01.075](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075).
- AL-WABEL, M. I. et al. Conocarpus biochar as a soil amendment for reducing heavy metal availability and uptake by maize plants. **Saudi journal of biological sciences**, Riyadh, v. 22, n. 4, p. 503-511, July 2015. DOI: [10.1016/j.sjbs.2014.12.003](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.003).
- AWASTHI, A. K.; PANDEY, A. K.; KHAN, J. An eco-friendly approach for minimizing pollution of metal from municipal solid waste leachate in India. **Journal of cleaner production**, Oxford, v. 140, p. 1.618-1.625, Jan. 2017. DOI: [10.1016/j.jclepro.2016.09.188](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.09.188).
- BARONA, A.; ARANGUIZ, A. E. Metal associations in soils before and after EDTA extractive decontamination: implications for the effectiveness of further clean-up procedures. **Environmental pollution**, Barking, v. 113, n. 1, p. 79-85, June 2001. DOI: [10.1016/S0269-7491\(00\)00158-5](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00158-5).
- BATES, D. et al. **Linear mixed-effects models using Eigen and S4**. Package ‘lme4’. 2017. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/index.html>>. Acesso em: 15 Mar. 2018.
- BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R. et al. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. **Functional ecology**, Oxford, v. 3, n. 4, p. 497-514, Jan. 1989. DOI: 10.2307/2389624.
- BROTMAN, Y. et al. Transcript and metabolite analysis of the Trichoderma-induced systemic resistance response to Pseudomonas syringae in Arabidopsis thaliana. **Microbiology**, Washington, DC, v. 158, p. 139-146, Jan. 2012. DOI: [10.1099/mic.0.052621-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.052621-0).
- CAO, X.; HARRIS, W. Properties of dairy-manure-derived biochar pertinent to its potential use in remediation. **Bioresource technology**, Barking, v. 101, n. 14, p. 5.222-5.228, July 2010. DOI: [10.1016/j.biortech.2010.02.052](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.052).
- CAMBROLLÉ, J. et al. Growth, reproductive and photosynthetic responses to copper in the yellow-horned poppy, Glaucium flavum crantz. **Environmental and experimental botany**, Oxford, v. 71, n. 1 p. 57-64, Apr. 2011. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2010.10.017](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.10.017).
- \_\_\_\_\_. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, Oxford, v. 120, p. 171-178, Feb. 2015. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2014.06.044](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.044).
- CAVELLO, I. A. et al. Plant growth promotion activity of Keratinolytic Fungi growing on a recalcitrant waste known as (hair waste). **Biotechnology research international**, New York, v. 2015, p. 1-10, Nov. 2015. DOI: 10.1155/2015/952921.
- CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al. Trichoderma-induced plant immunity likely involves both hormonal- and camalexin dependent mechanisms in Arabidopsis thaliana and confers

resistance against necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*. **Plant signal & behavior**, Georgetown, TX, v. 6, n. 10, p. 1.554-1.563, Oct. 2011. DOI: [10.4161/psb.6.10.17443](https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17443).

DIXIT, R. et al. Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. **Sustainability**, Basel, v. 7, n. 2, p. 2.189-2.212, Feb. 2015. DOI: 10.3390/su7022189.

DUBE, A. et al. Adsorption and migration of heavy metals in soil. **Polish journal of environmental studies**, Olsztyn, v. 10, n. 1, p. 1-10, Jan. 2001. Disponível em: <<https://www.pjoes.com/abstracts/2001/Vol10/No01/01.html>>. Acesso em: 15 Jan. 2018.

FOMINA, M.; GADD, G. M. Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. **Bioresource technology**, Barking, v. 160, p. 3-14, May 2014. DOI: [10.1016/j.biortech.2013.12.102](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.102).

FOX, J. et al. **Companion to applied regression**. Package ‘car’. 2017. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/car/index.html>>. Acesso em: 15 Mar. 2018.

GIBSON, D. M. et al. Discovering the secondary metabolite potential encoded within entomopathogenic fungi. **Natural product reports**, London, UK, v. 31, n. 10, p. 1.287-1.305, Aug. 2014. DOI: [10.1039/c4np00054d](https://doi.org/10.1039/c4np00054d).

HERMOSA, R. et al. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. **International microbiology**, Madrid, v. 16, p. 69-80, June 2013. DOI: 10.2436/20.1501.01.181.

HUSSON, F. et al. FactoMineR: **Multivariate exploratory data analysis and data mining**. Package ‘FactoMineR’. 2017. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/FactoMineR/index.html>>. Acesso em: 15 Mar. 2018.

JABER, L. R.; ENKERLI, J. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. **Biological control**, New York, v. 103, p. 187-195, Dec. 2016. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2016.09.008](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008).

JANIK, E.; MAKSYMIEC, W.; GRUSZECKI, W. I. The photoprotective mechanisms in *Secale cereale* leaves under Cu and high light stress condition. **Journal of photochemistry and photobiology**, Lausanne, v. 101, n. 1, p. 47-52, Oct. 2010. DOI: [10.1016/j.jphotobiol.2010.06.010](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.06.010).

KHAN, M. R. Management of root-knot disease in eggplant through the application of biocontrol fungi and dry neem leaves. **Turkish journal of biology**, Ankara, v. 36, n. 2, p. 161-169, Jan. 2012. DOI: 10.3906/biy-1008-72.

LADISLAS, S. et al. Potential of aquatic macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution in urban stormwater runoff. **Water, air & soil pollution**, Dordrecht, v. 223, n. 2, p. 877-888, Feb. 2012. DOI: 10.1007/s11270-011-0909-3.

LEHMANN, J.; JOSEPH, S. Biochar for environmental management: an introduction. In: \_\_\_\_\_ (Ed.). **Biochar for environmental management: science and technology**. London, UK: Earthscan, 2009. p. 1-12. ISBN: 978-1844076581.

LIAO, X. et al. Overexpression of a *Metarhizium robertsii* HSP25 gene increases thermotolerance and survival in soil. **Applied microbiology and biotechnology**, Berlin, v. 98, n. 2, p. 777-783, Jan. 2014. DOI: [10.1007/s00253-013-5360-5](https://doi.org/10.1007/s00253-013-5360-5).

\_\_\_\_\_. *Metarhizium robertsii* produces indole-3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects. **Microbiology**, Washington, DC, v. 163, p. 980-991, July 2017. DOI: [10.1099/mic.0.000494](https://doi.org/10.1099/mic.0.000494).

LIU, T. W. et al. Effects of calcium on seed germination, seedling growth and photosynthesis of six forest tree species under simulated acid rain. **Tree physiology**, Oxford, v. 31, n. 4, p. 402-413, Apr. 2011. DOI: [10.1093/treephys/tpr019](https://doi.org/10.1093/treephys/tpr019).

MACIÁ-VICENTE, J. G. et al. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. **Annals of applied biology**, Wellesbourne, v. 155, n. 3, p. 391-401, Dec. 2009b. DOI: [10.1111/j.1744-7348.2009.00352.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00352.x).

MALLICK, N.; MOHN, F. H. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus*. **Ecotoxicology and environmental safety**, Amsterdam, v. 55, n. 1, p. 64-69, May, 2003. DOI: [10.1016/S0147-6513\(02\)00122-7](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00122-7).

MARTÍNEZ-MEDINA, A. et al. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 72, n. 2-3, p. 223-229, Feb. 2011. DOI: [10.1016/j.phytochem.2010.11.008](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.008).

\_\_\_\_\_. Phytohormone Profiles induced by trichoderma isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of chemical ecology**, New York, v. 40, n. 7, p. 804-815, July 2014. DOI: [10.1007/s10886-014-0478-1](https://doi.org/10.1007/s10886-014-0478-1).

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition in higher plants**. 2 ed. Cambridge, MA: Academic Press, 1995. ISBN: 0124735436.

MATEOS-NARANJO, E. et al. Growth and photosynthetic responses to copper stress of an invasive cordgrass *Spartina densiflora*. **Marine environmental research**, London, UK, v. 66, n. 4, p. 459-465, Oct. 2008. DOI: [10.1016/j.marenvres.2008.07.007](https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2008.07.007).

MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. **Current opinion in biotechnology**, London, UK, v. 14, n. 3, p. 277-282, June 2003. DOI: [10.1016/S0958-1669\(03\)00060-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(03)00060-0).

MEMON, A. R.; SCHRÖDER, P. Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. **Environmental science pollution research international**, Landsberg, v. 16, n. 2, p. 162-175, Mar. 2009. DOI: [10.1007/s11356-008-0079-z](https://doi.org/10.1007/s11356-008-0079-z).

MISHRA, A.; MALIK, A. Novel fungal consortium for bioremediation of metals and dyes from mixed waste stream. **Bioresource technology**, Barking, v. 171, p. 217-226, Nov. 2014. DOI: [10.1016/j.biortech.2014.08.047](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.047).

MISHRA, J.; SINGH, R.; ARORA, N. K. Alleviation of heavy metal stress in plants and remediation of soil by rhizosphere microorganisms. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 8, n. 1.706, Sept. 2017. DOI: [10.3389/fmicb.2017.01706](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01706). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5592232/>>. Acesso em: 03 Jan. 2018

MUNROE, P.; CROSKY, A.; DOWNIE, A. Physical properties of biochar. In: JOSEPH, S.; LEHMANN, J. S. (Ed.). **Biochar for environmental management: science and technology**. London, UK: Earthscan, 2009. p. 13-32. ISBN: 978-1844076581.

OGGERIN, M. et al. Specific jarosite biomineralization by *Purpureocillium lilacinum*, an acidophilic fungi isolated from Río Tinto. **Environmental microbiology**, Oxford, v. 15, n. 8, p. 2.228-2.237, Jan. 2013. DOI: [10.1111/1462-2920.12094](https://doi.org/10.1111/1462-2920.12094).

OKSANEN, J. et al. **Community ecology package**. Package ‘Vegan’. Version 2.4-6. 2018. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>>. Acesso em: 21 Dez. 2017.

PAZ-FERREIRO, J. et al. Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review. **Solid earth**, Gotinga, v. 5, p. 65-75, Feb. 2014. DOI: 10.5194/se-5-65-2014.

PILON, M. et al. Copper cofactor delivery in plant cells. **Current opinion in plant biology**, London, UK, v. 9, n. 3, p. 256-263, June 2006. DOI: [10.1016/j.pbi.2006.03.007](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.007).

PRAKONGKEP, N.; GILKES, R. J.; WIRIYAKITNATEEKUL, W. Forms and solubility of plant nutrient elements in tropical plant waste biochars. **Journal of plant nutrition and soil science**, Weinheim, v. 178, n. 5, p. 732-740, Oct. 2015. DOI: [10.1002/jpln.201500001](https://doi.org/10.1002/jpln.201500001).

PEDRAS, M. S. C.; MONTAUT, S. Probing Crucial Metabolic Pathways in Fungal Pathogens of Crucifers: Biotransformation of Indole-3-Acetaldoxime, 4-Hydroxyphenylacetaldoxime, and Their Metabolites. **Bioorganic & medicinal chemistry**, Oxford, v. 11, n. 14, p. 3.115-3.120, July 2003. DOI: [10.1016/S0968-0896\(03\)00241-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(03)00241-4).

QIN, L. Q. et al. Damaging mechanisms of chilling and salt stress to *Arachis hypogaea* L. leaves. **Photosynthetica**, Berlin, v. 49, n. 1, p. 37-42, Mar. 2011. DOI: 10.1007/s11099-011-0005-3.

RAGHAVENDRA, A. S. et al. ABA perception and signalling. **Trends in plant science**, Oxford, v. 15, n. 7, p. 395-401, July 2010. DOI: [10.1016/j.tplants.2010.04.006](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.04.006).

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting?. **Plant science**, London, UK, v. 180, n. 2, p. 169-181, Feb. 2011. DOI: [10.1016/j.plantsci.2010.08.016](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016).

RONDON, M. A. et al. Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with bio-char additions. **Biology and fertility of soils**, Berlin, v. 43, n. 6, p. 699-708, Aug. 2007. DOI: 10.1007/s00374-006-0152-z.

SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. **American journal of botany**, St. Louis, v. 99, n. 1, p. 101-107, Jan. 2012. DOI: [10.3732/ajb.1100136](https://doi.org/10.3732/ajb.1100136).

SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. ISBN: 978-85-7383-430-7.

SOLAIMAN, Z. M. et al. Direct and residual effect of biochar application on mycorrhizal root colonisation, growth and nutrition of wheat. **Australian journal of soil research**, Lismore, v. 48, n. 7, p. 546-554, Sept. 2010. DOI: 10.1071/SR10002.

THAKUR, S. et al. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. **Environmental monitoring assessment**, Dordrecht, p. 188-206, Mar. 2016. DOI: 10.1007/s10661-016-5211-9.

UCHIMIYA, M. et al. Contaminant immobilization and nutrient release by biochar soil amendment: roles of natural organic matter. **Chemosphere**, Oxford, v. 80, n. 8, p. 935-940, Aug. 2010. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.05.020](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.05.020).

VAILLANT-GAVEAU, N. et al. Comparative study of responses in four *Datura* species to zinc stress. **Chemosphere**, Oxford, v. 59, n. 7, p. 1.005-1.013, June 2005. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.11.030.

VAN DER ENT, A. et al. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: facts and fiction. **Plant and soil**, The Hague, v. 362, n. 1-2, p. 319-334, Jan. 2013. DOI: 10.1007/s11104-012-1287-3.

VIJAYARAGHAVAN, K.; BALASUBRAMANIAN, R. Is biosorption suitable for decontamination of metal-bearing wastewaters? A critical review on the state of the art of biosorption processes and future directions. **Journal of environment management**, London, UK, v. 160, p. 283-296, Sept. 2015. DOI: [10.1016/j.jenvman.2015.06.030](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.06.030).

WAGNER, A.; KAUPENJOHANN, M. Suitability of biochars (pyroand hydrochars) for metal immobilization on former sewagefield soils. **European journal of soil science**, Oxford, v. 65, n. 1, p. 139-148, Jan. 2014. DOI: [10.1111/ejss.12090](https://doi.org/10.1111/ejss.12090).

WILSON, B.; PYATT, F. B. Heavy metal bioaccumulation by the important food plant, *Olea europaea* L., in an ancient metalliferous polluted area of Cyprus. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 78, n. 5, p. 390-394, May 2007. DOI: [10.1007/s00128-007-9162-2](https://doi.org/10.1007/s00128-007-9162-2).

WU, Q. et al. Phytostabilization potential of *Jatropha curcas* L. in polymetallic acid mine tailings. **International journal of phytoremediation**, London, UK, v. 13, n. 8, p. 788-804, May 2011. DOI: 10.1080/15226514.2010.525562.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **International scholarly research notices**, Cairo, v. 2.011, Aug. 2011. DOI: 10.5402/2011/402647. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/isrn/2011/402647/>> Acesso em: 22 Nov. 2017.

ZACCHINI, M. et al. Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. **Water, air & soil pollution**, Dordrecht, v. 197, n. 1-4, p. 23-34, Feb. 2009. DOI: 10.1007/s11270-008-9788-7.

ZAVALA-GONZALES, E. A. et al. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. **Annals of applied biology**, Wellesbourne, v. 166, n. 3, p. 472-483, May 2015. DOI: [10.1111/aab.12199](https://doi.org/10.1111/aab.12199).

ZUUR, A. F. et al. **Mixed effects models and extensions in ecology with R**. New York: Springer-Verlag, 2009. DOI: 10.1007/978-0-387-87458-6.

\_\_\_\_\_; IENO, E. N.; ELPHICK, C. S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. **Methods in ecology and evolution**, Hoboken, v. 1, n. 1, p. 3-14, Mar. 2010. DOI: [10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x](https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2009.00001.x).