

**TOLERÂNCIA DE MUDAS DE CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.)  
INOCULADA COM *Pisolithus microcarpus* A SOLO COM EXCESSO DE COBRE<sup>1</sup>  
TOLERANCE OF CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.) SEEDLINGS  
INOCULATED WITH *Pisolithus microcarpus* TO COPPER CONTAMINATED SOIL**

Rodrigo Ferreira da Silva<sup>2</sup> Zaida Inês Antonioli<sup>3</sup> Manoeli Lupatini<sup>4</sup>  
Lineu Leal Trindade<sup>4</sup> Alessandro Salles da Silva<sup>5</sup>

**RESUMO**

A associação de fungos ectomicorrízicos com essências florestais nativas pode ser uma alternativa para revegetação de solos contaminados por metais pesados. O objetivo do trabalho foi determinar o comportamento de mudas de canafístula inoculadas com fungo ectomicorrízico em solo contaminado por cobre. O fungo ectomicorrízico utilizado foi o *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116, produzido em substrato composto por turfa-vermiculita (3:1). As mudas de canafístula foram desenvolvidas em areia lavada e transplantada para unidades experimentais quando apresentaram duas folhas definitivas. Como unidade experimental foi utilizado vaso com capacidade de 1 L contendo 1 kg de solo. A inoculação foi realizada no momento do transplante das mudas, sendo adicionado 2 g de inoculante por unidade experimental. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, num esquema bifatorial (2 x 4) qualitativo em A, com e sem inoculante do fungo, e quantitativo em D, sendo o controle, adição de 150 mg kg<sup>-1</sup>, 300 mg kg<sup>-1</sup> e 450 mg kg<sup>-1</sup> de cobre (CuSO<sub>4</sub>), com sete repetições. Determinou-se altura de planta, diâmetro do colo, massa seca da parte aérea, teor de cobre na planta, porcentagem de colonização micorrízica, área superficial específica radicular e comprimento radicular. O incremento das doses de cobre no solo reduziu o comprimento radicular, área superficial específica radicular, altura e diâmetro das plantas de canafístula. As mudas de canafístula inoculadas com fungo ectomicorrízico apresentam menor teor de cobre em seu tecido e reduzem a absorção de cobre na dose mais elevada.

**Palavras-chave:** ectomicorriza; metal pesado; contaminação do solo.

**ABSTRACT**

The ectomycorrhizal fungi symbiosis with native florestal essences may be an alternative to revegetation of metal contaminated soils. The aim of this work was to determine canafístula seedlings behavior, inoculated to ectomycorrhizal fungi in soil with copper excess. The trial was conducted in greenhouse conditions. The ectomycorrhizal fungi used was *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116, cultivated on peat-vermiculite substrate (3:1). The canafístula seedlings were developed in washed sand and transplanted, when showed two definitive leaves. Vase of 1L with 1 kg of soil were used as experimental unit. The inoculation was accomplished in the

1. Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria. Apoio: FAPERGS.
2. Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor Adjunto do Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, campus CESNORS, Linha Sete de Setembro s/n, BR386 km 40, CEP 98400-000, Frederico Westphalen (RS). rodrigossilva@smail.ufsm.br
3. Bióloga, Dr<sup>a</sup>., Professora Adjunta do Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97119-900, Santa Maria (RS). zaida@smail.ufsm.br. Bolsista de Produtividade CNPq.
4. Acadêmicos do Curso de Agronomia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97119-900, Santa Maria (RS). mlupatini@gmail.com / lineuleal@yahoo.com.br. Bolsista FAPERGS.
5. Engenheiro Ambiental, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, CEP 97119-900, Santa Maria (RS). alessandromardini@gmail.com

Recebido para publicação em 5/12/2007 e aceito em 11/12/2009.

seedlings transplant, added 2g of inoculates for experimental unit. The experimental design was entirely casual in bi factorial scheme (2 x 4) qualitative in A, with and without fungi inoculum and quantitative in D being the control addition of 150 mg Kg<sup>-1</sup>, 300 mg Kg<sup>-1</sup> and 450 mg Kg<sup>-1</sup> of copper (CuSO<sub>4</sub>), with seven repetitions. Plant height, colon diameter, dry matter, copper content, mycorrhizal colonization percentage, superficial roots area and roots length were assessed. The increase of soil copper levels reduced roots length, specific superficial roots area, height and plant diameter of canafístula. Canafístula seedlings inoculated to ectomycorrhizal fungi showed low copper amounts in their tissue and copper absorption reduced in high copper doses.

**Keywords:** ectomycorrhizal; heavy metal; contamination soil.

## INTRODUÇÃO

A intensa demanda por produtos manufaturados tem contribuído para contaminação do ambiente por metais potencialmente tóxicos, como zinco (Zn), cobre (Cu) e chumbo (Pb) (RIBEIRO FILHO *et al.*, 1999). Esses metais podem contaminar os ecossistemas de forma irreversível (LEYVAL *et al.*, 1997), causando redução da atividade microbiana do solo (DIAS JÚNIOR *et al.*, 1998) e alterando a composição das espécies de fungos (NORDGREN *et al.*, 1985; RÜHLING e SÖDERSTROM, 1990). Desse modo, quando uma área atinge níveis de contaminação muito elevados poderá ocorrer supressão da vegetação. Nesse sentido, a seleção de organismos tolerantes a esse tipo de ambiente, torna-se necessário na busca de alternativas para a revegetação dessas áreas.

Embora o cobre seja um elemento essencial às plantas (SOLIOZ e STOYANOV, 2003), áreas contaminadas por esse elemento têm se tornado comum na Região Sul do Brasil, em consequência das atividades de mineração e em decorrência da aplicação de fungicidas à base de cobre em regiões vinícolas, (GIOVANNINI, 1997). A dificuldade no estabelecimento e desenvolvimento da vegetação nessas áreas implica no estudo de alternativas que envolvam plantas e organismos do solo que apresentem tolerância ao contaminante.

As essências florestais nativas podem ser uma opção para revegetação de áreas contaminadas por cobre. Essas plantas, além de suas características fisiológicas desejáveis, como crescimento relativamente rápido, vigor e rusticidade, apresentam também grandes vantagens comerciais quanto à madeira, e subprodutos em relação às comercialmente mais utilizadas como o eucalipto e o pinus (SCHROEDER, 1991). A canafístula (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.) é uma leguminosa de

ampla e expressiva dispersão, freqüente nas matas da bacia do rio Paraná, indicada para recuperar áreas degradadas (BACKES e IRGANG, 2004). No Rio Grande do Sul, embora as espécies florestais nativas tenham sido muito estudadas nos últimos anos, sobretudo em solos em processo de degradação, poucos estudos têm sido realizados com ênfase na ecologia e associações com outros organismos, como os fungos ectomicorrízicos, os quais podem favorecer o estabelecimento dessas plantas.

Os fungos ectomicorrízicos, ao associar-se com as plantas, desenvolvem estruturas eficientes na absorção de água e nutrientes do solo, os quais são posteriormente transferidos para as plantas (SMITH e READ, 1997; SILVA, 2002; SILVA *et al.*, 2003). Esses fungos se destacam por interagir com as espécies vegetais formando uma associação simbiótica mutualística, que através da maior absorção de nutrientes e proteção das raízes, contribuem para o desenvolvimento das plantas (PEROTTO e BONFANTE, 1997). Esses fungos conferem às plantas maior tolerância aos metais pesados, indicando a possibilidade de uso dos mesmos em processos de biorremediação de solos poluídos por meio do acúmulo desses elementos nas plantas (LEYVAL *et al.*, 1997; KHAN, 2001; SCHELOSKE *et al.*, 2001).

Os fungos ectomicorrízicos são benéficos ao crescimento da planta hospedeira, especialmente em situações em que fatores climáticos e edáficos são limitantes (SMITH e READ, 1997). Sabe-se que certos fungos podem, ainda, apresentar elevada tolerância a metais pesados (MEDVE e SAYRE, 1994). Esse efeito tem sido atribuído à habilidade dessas associações em reter os metais no micélio fúngico, evitando a translocação destes para a parte aérea da planta, aumentando sua tolerância (COLPAERT e VAN ASSCHE, 1993; AGGANGAN *et al.*, 1998). Moreira e Siqueira (2002) atribuem essa

habilidade a mecanismos que incluem processos externos às hifas, ligação a polímeros da parede celular e processos internos nas células dos fungos, em que os metais podem ser complexados, compartimentalizados ou volatilizados.

Contudo, quando em excesso, os metais pesados podem influenciar negativamente os fungos ectomicorrízicos (DIXON e BUSCHENA, 1988), podendo inibir a colonização em plantas (BELL *et al.*, 1988; GRAZZIOTTI, 1999). Rühling e Söderstrom (1990) observaram redução no número de frutificações e espécies de Basidiomicetos à medida que aumentava o nível de contaminação por As, Cd, Cu, Pb e Zn. Também é observado que os fungos ectomicorrízicos respondem de forma diferenciada a contaminação do solo, de acordo com a espécie e o tipo de metal envolvido (HARTLEY *et al.*, 1997).

Por isso, o estabelecimento de essências florestais nativas micorrizadas pode ser uma alternativa na revegetação e aproveitamento de áreas degradadas contaminadas por cobre. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de mudas de canafístula inoculadas com o fungo ectomicorrízico *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116 em solo com excesso de cobre.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Solo

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Estação de Pesquisas Florestais de Santa Maria – FEPAGRO-Florestas, localizada no distrito de Boca do Monte, Santa Maria, RS e teve duração de 180 dias.

O solo utilizado no experimento é classificado como Argiloso Vermelho-amarelo distrófico típico (EMBRAPA, 1999). As amostras de solo, após coleta com trado calador, a 10 cm de profundidade, foram secas, destorroadas, passadas em peneira de 2 mm e em seguida esterilizadas em autoclave. O processo de esterilização constou em colocar o solo em sacos de pano e submeter à temperatura de 121°C por 1

hora, sendo essa operação repetida por três vezes consecutiva. A caracterização da amostra utilizada é apresentada na Tabela 1.

### Espécie florestal

A planta utilizada no experimento foi a canafístula (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB). As mudas foram produzidas em areia lavada e esterilizada em autoclave. Posteriormente, foram transplantadas para os vasos de cultivo quando apresentavam dois pares de folhas definitivas. Não foi utilizada adubação de P e K, pois o solo apresentava teores satisfatórios desses nutrientes. Aplicou-se o equivalente a 30 kg ha<sup>-1</sup> de N na forma de uréia como adubação de base e calagem com calcário dolomítico para elevar o pH do solo para 5,5.

Os vasos de cultivo apresentavam capacidade de 1 L, nos quais foi colocado 1 kg de amostra de solo. Cada vaso foi considerado uma unidade experimental. A umidade do solo foi mantida a 80% da sua capacidade de campo, completando a diferença do peso dos vasos, com água destilada até 1,2 kg (com base no peso dos vasos inicialmente saturados).

### Inoculante ectomicorrízico

O inoculante utilizado no experimento foi produzido tomando por base o fungo ectomicorrízico *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116. O fungo foi cultivado em 50 mL de meio líquido MNM (MARX, 1969) em erlenmeyer de 250 mL. Quando o fungo apresentou crescimento cobrindo toda superfície do erlenmeyer foi transferido para substrato, previamente esterilizado, contendo turfa-vermiculita (3:1), acrescido de 200 mL de meio MNM líquido. Após 40 dias o fungo apresentou crescimento por todo o substrato, foi então homogeneizado e aplicado 2 g dessa mistura em cada tratamento com fungo. Aplicou-se também 2 g do substrato turfa-vermiculita sem fungo nos tratamentos sem o inoculante.

TABELA 1: Características gerais do solo utilizado no experimento em casa de vegetação.

TABLE 1: General characteristics of soil used at greenhouse experiment.

pH - água	Ca + MG	Al	H + Al	P	K	Cu	MO	Argila
1:1	cmol <sub>c</sub> /Kg <sup>-1</sup>			mg dm <sup>3</sup>			g Kg <sup>-1</sup>	
4,8	5,5	13	6,2	12,6	28	0,6	12	190

### **Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado num bifatorial (2 x 4) qualitativo em A (com e sem fungo ectomicorrízico) e quantitativo em D (controle, adição de 150 mg kg<sup>-1</sup>, 300 mg kg<sup>-1</sup> e 450 mg kg<sup>-1</sup>), com sete repetições, totalizando 56 unidades experimentais.

### **Parâmetros avaliados**

Avaliaram-se os seguintes parâmetros: altura de planta, diâmetro de colo, massa seca da parte aérea, comprimento radicular, área superficial específica radicular, conforme Tennant (1975) teor de cobre na planta (SILVA, 1999) e porcentagem de colonização radicular (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980).

#### ***Altura de planta e diâmetro do colo***

A altura de planta foi medida utilizando-se uma régua graduada de 50 cm de comprimento. Para evitar a interferência da irregularidade da superfície do solo contido nos potes, colocou-se uma pequena lâmina de isopor no ponto zero da régua formando um ângulo de 90°.

Para a medida do diâmetro de colo, foi utilizado um paquímetro digital, marca Mitutoyo.

#### ***Massa seca da parte aérea e do sistema radicular***

As plantas foram cortadas rente ao solo, separando a parte aérea do sistema radicular. As raízes foram separadas do solo, lavadas com água destilada, em seguida, a parte aérea das plantas e as raízes foram colocadas em sacos de papel, identificadas e levadas à estufa a 65°C, onde permaneceram até atingirem o peso constante. Após, pesou-se em balança digital com três casas decimais, obtendo-se a massa seca da parte aérea. A massa seca radicular foi utilizada para determinação de cobre na raiz.

#### ***Comprimento radicular***

Na análise do comprimento radicular, separou-se uma amostra de 0,2 g de raízes cortadas em 1 cm e distribuiu-se em uma placa quadriculada de 1 cm x 1 cm e, em seguida, contou-se o número de intersecções das raízes com as linhas da placa. O comprimento radicular foi estimado seguindo-se o método de Tennant (1975), conforme a expressão:

$L = N^{\circ} \text{ inter sec ções} \times Fc$ ; sendo L = Comprimento radicular; e Fc = Fator de correção (0,7857).

#### ***Área superficial específica radicular***

A área superficial específica do sistema radicular foi estimada segundo Tennant (1975), conforme a expressão:  $S = 2\pi \times R \times L$ ; sendo S = Área Superficial Específica; R = Raio; e L = Comprimento Radicular. Para o cálculo do raio,

utilizou-se a expressão:  $R = \sqrt{V / L \times \pi}$ , sendo, V = Volume da massa verde do sistema radicular.

#### ***Análise química***

O material utilizado para essa análise foi à massa seca da parte aérea e massa seca radicular. Estas foram moídas em moinho tipo facas, passada em peneira de 2 mm e então submetida à análise química para determinar as concentrações de Cobre. Na análise de Cu empregou-se a digestão por via úmida com solução nitro-perclórica (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>) na proporção 3:1, segundo metodologia descrita por Silva (1999). As concentrações de Cu foram determinadas em espectrofotômetro de absorção atômica.

#### ***Avaliação da associação micorrízica***

As amostras para determinação da porcentagem de raízes colonizadas por fungos ectomicorrízicos foram coletadas na ocasião da coleta do experimento. As raízes das plantas foram separadas do solo, através de peneiras e lavadas com água destilada e em seguida, retirou-se uma amostra de 0,1 g de raízes, as quais foram cortadas em 1 cm e armazenadas em solução com álcool comercial a 50%. No laboratório, essas raízes foram submetidas ao processo de clareamento e coloração. O procedimento de clareamento e coloração das raízes constou em deixar uma amostra de 0,1 g de raízes imersas em solução de KOH 10% a 80°C durante 1h30min. Após, lavou-se com água e posteriormente foram colocadas em HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> durante 2 minutos. Lavou-as novamente com água e colocou-se em Trypan Blue (corante) a 80 °C por 30 minutos. Posteriormente, lavou-as novamente com água e armazenou-as em lactoglicerol, conforme Brundrett *et al.* (1996).

A avaliação da porcentagem de colonização micorrízica (CM) foi estimada pelo método da placa

quadriculada (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980), por meio da expressão:

$$CM : (N^{\circ} \text{ total de raízes colonizadas} / N^{\circ} \text{ total de raízes}) \times 100$$

### Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando da significância da análise as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Equações de regressão foram ajustadas para os teores de cobre na planta, tomando-se como base os níveis de significância maiores que 95% ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram que, quanto maior a dose de cobre aplicado no solo, maior é o teor de cobre no tecido das mudas de canafístula. Mesmo não apresentando diferença estatística, os teores de cobre no tecido das plantas foram menores em mudas colonizadas com o fungo ectomicorrízico (Tabela 2). Nas mudas com o fungo micorrízico, a dose 450 mg kg<sup>-1</sup> apresentou diferença significativa em relação ao controle, indicando que a presença do fungo pode retardar a absorção de cobre pelas mudas de canafístula. (Tabela 2). O fungo micorrízico pode reter os metais em seu micélio, retardando a translocação destes para a parte aérea da planta, contribuindo assim, para o aumento da sua tolerância (AGGANGAN *et al.*, 1998). Aos fungos

ectomicorrízicos também tem sido atribuído o papel da imobilização de metais por meio de ligação a polímeros da parede celular e processos internos das células, nos quais os metais podem ser complexados, compartimentalizados ou até mesmo volatilizados (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002).

Observou-se diferença significativa entre os tratamentos com e sem fungo na colonização micorrízica e um efeito significativo das doses de cobre sob a colonização (Tabela 2). A maior colonização ocorreu com o acréscimo de cobre ao solo, sendo a dose de 300 mg kg<sup>-1</sup> a que apresentou maior colonização, reduzindo na dose mais alta. Os metais podem expressar efeito deletério sob os fungos ectomicorrízicos, reduzindo a colonização micorrízica (GRAZZIOTTI, 1999). Nesse caso, embora o fungo UFSC Pt116 tenha reduzido a absorção de cobre pela planta, a associação pode ter sido influenciada pela toxicidade deste metal. Além disso, tem se observado que o teor de fósforo no solo é tido como fator limitante para o estabelecimento da colonização micorrízica. Soares (1986) verificou alta taxa de colonização em *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden quando o substrato apresentava 4,5 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo extraível. Andreazza *et al.* (2004) observaram redução de 59% na colonização por fungos ectomicorrízicos também em *Eucalyptus grandis*, quando se adicionou 30 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo em solo arenoso com teor inicial de 8 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo disponível, encontrando uma média de 27% de colonização radicular com a adição do fósforo. Desse modo, a disponibilidade de fósforo no solo do experimento (12,6 mg kg<sup>-1</sup>) pode não estar

TABELA 2: Teor de cobre (Cu) no tecido e percentagem de colonização micorrízica (CM) de mudas de canafístula cultivadas em diferentes doses de cobre inoculadas e não inoculadas com fungo *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116.

TABLE 2: Tissue copper level (Cu) and percentage of mycorrhizal colonization (CM) in canafistula seedlings cultivated in different levels of copper inoculated and no inoculated to *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116 fungi.

Doses de cobre mg kg <sup>-1</sup>	Cu (mg Kg <sup>-1</sup> )		CM (%)	
	Sem fungo	com fungo	sem fungo	com fungo
0	11,5 dA	11,4 bA	0,0 aB	2,6 bA
150	103,8 cA	54,4 bA	0,0 aB	4,4 abA
300	264,4 bA	227,8 aA	0,0 aB	6,6 aA
450	489,6 aA	304,0 aB	0,0 aB	4,2 abA
CV %	10,9		24,4	

Em que: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro de cada variável (cobre e CM), não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade de erro ( $p < 0,05$ ).

favorecendo uma alta taxa de colonização micorrízica. No entanto, não há referência na literatura sobre a relação fungo ectomicorrízico e níveis de cobre em canafístula.

A diferença significativa no teor de cobre no tecido em relação à presença do fungo na dose de 450 mg kg<sup>-1</sup> e na colonização micorrízica (Tabela 2) evidencia que o fungo ectomicorrízico UFSC Pt116 pode reduzir a absorção de metais pelas plantas em doses elevadas. Os fungos ectomicorrízicos mostram habilidade em absorver metais pesados do solo podendo ser usado como atenuadores da fitotoxidez causada por esses (LEYVAL *et al.*, 1997) e podem imobilizar os metais pesados, diminuindo a sua disponibilidade para o solo (GRAZZIOTTI *et al.*, 2001). O manto fúngico e a rede de Harting são estruturas fúngicas que podem imobilizar os metais do solo, configurando um importante mecanismo de proteção às plantas (COSTA *et al.*, 2003). Jones e Hutchinson (1986) observaram crescimento superior a 54%, em mudas de *Betula papyrifera* Marsh. colonizadas por *Scleroderma flavidum* Pers. na presença de 85 mol L<sup>-1</sup> de Ni, e atribuíram esse comportamento a retenção dos metais no micélio. Os resultados do presente trabalho indicam a capacidade do fungo ectomicorrízico UFSC Pt116 em promover a retenção de cobre em seu micélio fúngico evitando que seja absorvido pelas raízes das mudas de canafístula.

O teor de cobre no tecido das plantas revelou comportamento linear nas mudas de canafístula

inoculadas e não inoculadas com o fungo ectomicorrízico UFSC Pt116 com adição de cobre ao solo (Figura 1). Contudo, observa-se que na presença do fungo ectomicorrízico, o teor de cobre no tecido das mudas foi menor. Trabalhos de pesquisa têm demonstrado estreita relação entre a produção de pigmentos extracelulares por fungos e a bioadsorção de metais (GADD, 1993; FOGARTY e TOBIN, 1996). A melanina, por exemplo, contém grupos carboxílicos, fenólicos, hidróxidos e aminas, os quais fornecem sítios potenciais de bioadsorção, inclusive para o cobre (GADD e DE ROME, 1988). Desse modo, o fungo ectomicorrízico UFSC Pt116 além de reter metais no seu micélio, pode também estar produzindo pigmentos extracelulares capazes de adsorver o cobre evitando que seja absorvido pelo sistema radicular das mudas de canafístula.

Observou-se decréscimo no comprimento radicular e área superficial específica com adição das doses de cobre no solo (Tabela 3). O excesso de cobre pode exercer efeitos deletérios sobre a estrutura e funções das raízes (JENSEN e ADALSTEINSSON, 1989; ADALSTEINSSON *et al.*, 1997), reduzindo o crescimento ou causando necrose nas raízes absorvente (SOARES *et al.*, 2000). O fungo ectomicorrízico foi benéfico para o comprimento radicular e área superficial específica radicular das mudas de canafístula apenas na dose 0 mgL<sup>-1</sup> de Cu, não exercendo efeito nas demais doses. Embora os fungos ectomicorrízicos também possam alterar o sistema radicular, proporcionando redução da

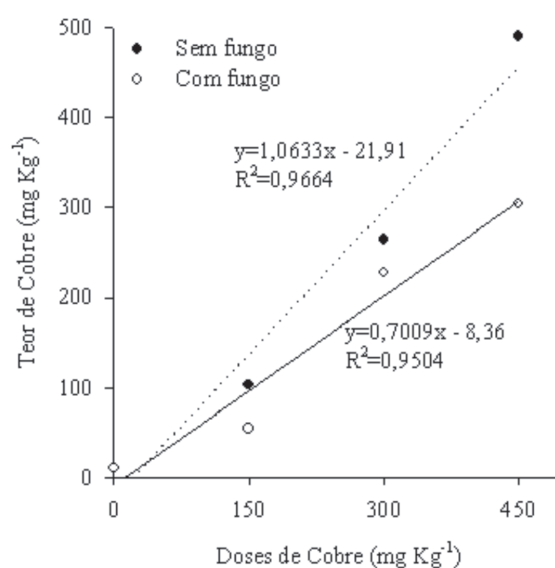


FIGURA 1: Teor de cobre em mudas de canafístula inoculadas e não inoculadas com fungo ectomicorrízico *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116.

FIGURE 1: Copper level in canafístula seedlings inoculated and no inoculated to *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116 ectomycorrhizal fungi.

dominância apical (SMITH e READ, 1997), estima-se que a superfície da área explorada por ectomicorrizas é mil vezes superior àquela de raízes sem a presença dos fungos ectomicorrízicos (HARLEY, 1969). Assim, mesmo reduzindo os parâmetros radiculares, espera-se maior capacidade de absorção de nutrientes e água pelas plantas micorrizadas, cultivadas em solo com excesso de cobre.

Na análise estatística para diâmetro de caule, altura de planta e massa seca da parte aérea observou-se que não houve interação significativa entre o fungo testado e as doses de cobre (Tabela 4). Contudo, espera-se que as plantas possam apresentar crescimento significativo em relação ao controle sem fungo, pois os fungos ectomicorrízicos também contribuem para aumentar a absorção de nutrientes e água pelas raízes (SMITH e READ, 1997; GRAZZIOTTI *et al.*, 2001). Nesse caso, pode ser que as espécies florestais, como a canafístula, necessitem de maior tempo de crescimento para expressar o efeito benéfico das ectomicorrizas.

Analisando apenas o efeito do cobre sobre os parâmetros sem interação, observa-se que o diâmetro e altura das mudas de canafístula apresentam a tendência de resistir ao efeito do cobre até a dose 150 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 2). Sabe-se que o uso de plantas pode alterar as formas dos metais pesados, reduzindo sua mobilidade e disponibilidade no solo (TORDOFF *et al.*, 2000). As plantas podem, ainda, contribuir indiretamente na remoção de metais pelo efeito rizosférico, por meio da microbiota biodegradadora ou acumulando o metal em suas raízes (MOREIRA e SIQUEIRA, 2002). Desse modo, as mudas de canafístula podem estar apresentando certo grau de tolerância até a dose de 150 mg kg<sup>-1</sup> de cobre. Torna-se, então, recomendável que se avalie o comportamento dessas plantas em doses intermediárias a 150 mg kg<sup>-1</sup> de cobre, para que se obtenham informações mais conclusivas.

Entretanto, observa-se que as doses testadas apresentam efeito negativo para massa seca da parte aérea das mudas de canafístula (Figura 2). Grandes

TABELA 3: Comprimento radicular e área superficial específica radicular (ASE) de mudas de canafístula cultivada nas diferentes doses de cobre, inoculada e não inoculada com fungo ectomicorrízico *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116.

TABLE 3: Radicular length and specific superficial radicular area (ASE) of canafistula seedlings cultivated in different levels of copper, inoculated and no inoculated to *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116 ectomycorrhizal fungi.

Doses de cobre mg kg <sup>-1</sup>	Comprimento radicular (cm)		ASE (cm <sup>2</sup> )	
	sem fungo	com fungo	sem fungo	Com fungo
0	3019,84* aB	4734,58 aA	232,17 aB	367,47 aA
150	2439,28 abA	1553,32 bA	201,27 abA	148,71 bA
300	1252,00 bA	1411,12 bA	112,29 abA	131,25 bA
450	1663,74 abA	1476,94 bA	112,07 bA	125,33 bA
CV %	23,44		22,72	

Em que: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha dentro de cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade de erro (p < 0,05).

TABELA 4: Diâmetro, altura e massa seca da parte aérea (MSPA) de mudas de canafístula inoculada e não inoculada com fungo *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116.

TABLE 4: Diameter, height and dry matter of the aerial part (MSPA) of canafistula seedlings inoculated and no inoculated to *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116 fungi.

Fungo	Diâmetro	Altura	MSPA
	mm	cm	G
Controle	3,0465 a	18,51 a	0,7675 a
UFSC Pt 116	3,2510 a	18,11 a	0,8175 a
CV %	7,09	3,96	9,38

Em que: Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro (p.< 0,05).

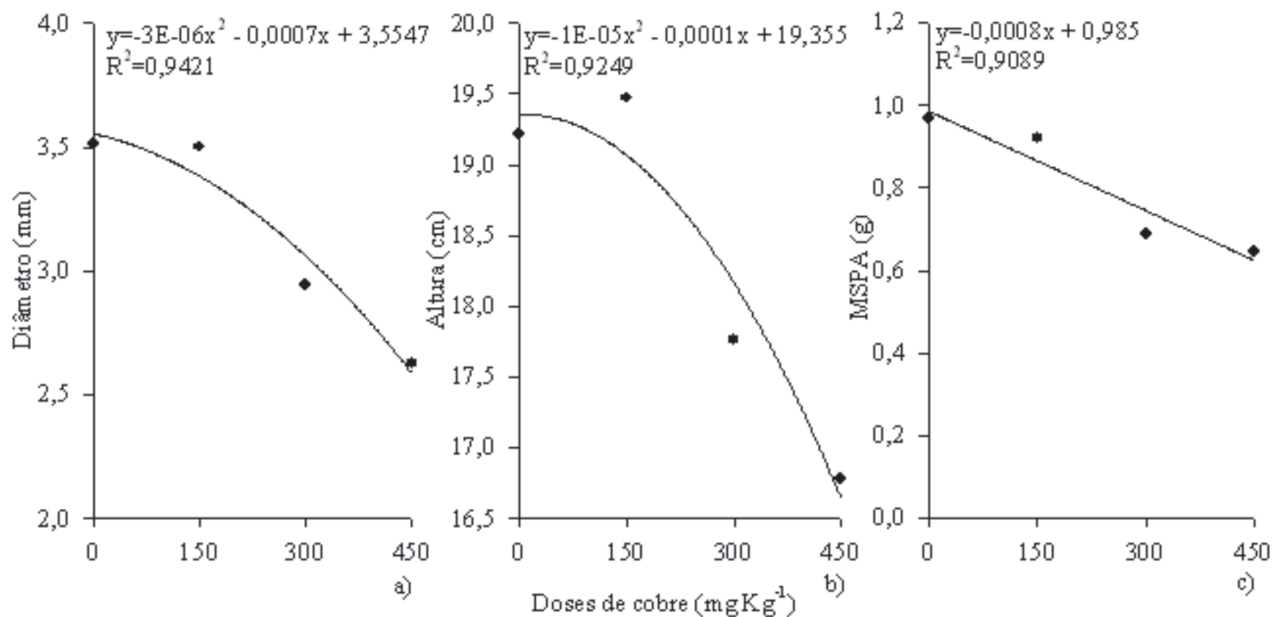


FIGURA 2: Diâmetro (a), altura (b) e massa seca da parte aérea (MSPA) (c) de mudas de canafístula nas diferentes doses de cobre.

FIGURE 2: Diameter (a), height (b) dry matter of the aerial part (MSPA) of canafístula seedlings on different levels of copper.

concentrações de cobre causam necrose das folhas, desfolhamento precoce e diminuição do crescimento (FILHO, 2007). Tais sintomas estão diretamente relacionados com a redução das raízes, que diminui a capacidade de absorção de água e nutrientes (PANOU-FILOTHEU *et al.*, 2001).

O cobre é um elemento essencial para planta e participa do metabolismo de carboidratos, do nitrogênio, da síntese de lignina e de clorofila (MARSCHNER, 1995; FILHO, 2007). Contudo, quando em altas concentrações na solução do solo o cobre, pode proporcionar alterações nos tecidos vegetais, em nível bioquímico e fisiológico, os quais podem resultar em perdas consideráveis do potencial produtivo das plantas (FERNANDES e HENRIQUES, 1991). Quando plantas são expostas ao excesso de cobre, estas apresentam alteração na atividade da enzima nitrato redutase, reduzindo o N total na planta e o tamanho da planta por causa da redução na produção de clorofila (LUNA *et al.*, 1997). Contudo, esse efeito não foi observado na massa seca da parte aérea das mudas de canafístula (Tabela 4) e pode ser atribuído a alterações na estrutura morfológica das plantas, que apresentavam mais ramificações, com a maior dose de cobre.

## CONCLUSÕES

A presença de cobre no tecido vegetal de mudas de canafístula é baixa quando há associação com o fungo *Pisolithus microcarpus* UFSC Pt116, embora o nível de fósforo encontrado no solo pode ter influenciado negativamente a associação micorrízica.

O isolado de fungo ectomicorrízico *Pisolithus microcarpus* UFSCPt116 reduz significativamente a absorção de cobre pelas mudas de canafístula na dose de 450 mg kg<sup>-1</sup>.

O excesso de cobre no solo reduz o desenvolvimento das mudas de canafístula.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo auxílio financeiro.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

ADALSTEINSSON, S. *et al.* Monitoring copper-induced in fine root geometry of birch (*Betula pendula*) using nutrient film technique. **Physiologia Plantarum**,



- Rockville, v. 99, n. 3, p. 379-384, 1997.
- AGGANGAN, N. S.; DELL, B.; MALAJCZUK, N. Effects of chromium and nickel on growth of the ectomycorrhizal *Pisolithus* and formation of ectomicorrizas on *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. **Geoderma**, Amsterdam, v. 84, n. 1-3, p. 15-27, 1998.
- ANDREAZZA, R. *et al.* Espécies de *Pisolithus* sp. na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em solo arenoso. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 2, p. 51-59, 2004.
- BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul: Guia de Identificação e Interesse Ecológico**. Santa Cruz do Sul: Instituto Souza Cruz, 2004. 326 p.
- BELL, R.; EVANS, C. S.; ROBERTS, E. R. Decreased incidence of mycorrhizal root types associated with soil heavy metal enrichment. **Plant and Soil**, Crawley, v. 106, n. 1, p. 143-145, 1988.
- BRUNDRETT, M. *et al.* **Working with mycorrhizas in forestry and agriculture**. Canberra: ACIAR, 1996. 400 p.
- COLPAERT, J. V.; VAN ASSCHE, J. A. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. **New Phytologist**, Cambridge, v. 123, n. 2, p. 325-333, 1993.
- COSTA, M. D. *et al.* Ectomicorrizas: a face oculta das florestas: Aplicações biotecnológicas das ectomicorrizas na produção florestal. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 29, n. 1, p. 38-46, 2003.
- DIAS JÚNIOR, H. E. *et al.* Metais pesados densidade e atividade microbiana do solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 22, n. 4, p. 631-640, 1998.
- DIXON, R. K.; BUSCHENA, C. A. Response of ectomycorrhizal *Pinus banksiana* and *Picea glauca* to heavy metals in soil. **Plant and Soil**, Crawley, v. 105, n. 2, p. 265-271, 1988.
- EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1999. 412 p.
- FERNANDES, J. C.; HENRIQUES, F. S. Biochemical, physiology and structural effects of excess copper in plants. **The Botanical Review**, Bronx, v. 57, n. 3, p. 246-273, 1991.
- FERREIRA, D. F. **Sistemas de análise estatística para dados balanceados**. Lavras: UFLA/DEX/SISVAR, 2000. 145 p.
- FILHO, H. G. **Cobre na planta**. Disponível em: (<http://www.fca.unesp.br/intranet/arquivo>) > Acesso em: 8 de março de 2007.
- FORGATY, R. V.; TOBIN, J. M. Fungal melanins and their interactions with metal. **Enzyme and Microbial Technology**, Kyungbug, v. 19, n. 4, p. 311-317, 1996.
- GADD, G. M.; DE ROME, L. Biosorption of copper by fungal melanin. **Applied microbiology and biotechnology**, Berlin, v. 29, n. 6, p. 610-617, 1988.
- GADD, G. M. Interactions of fungi with toxic metals. **New Phytologist**, Cambridge, v. 124, n. 11, p. 25-60, 1993.
- GIOVANETTI, M. G.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist**, Cambridge, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.
- GIOVANNINI, E. Toxidez por cobre em vinhedos. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 3, n. 2, p. 115-117, 1997.
- GRAZZIOTTI, P. H.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Efeito do Zn, Cd e Cu no comportamento de fungos ectomicorrízicos em meio de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 25, n. 4, p. 831-838, 2001.
- GRAZZIOTTI, P. H. **Comportamento de fungos ectomicorrízicos, *Acacia mangium* e espécies de *Pinus* e *Eucalyptus* em solo contaminado por metais pesados**. Lavras: UFLA, 1999. 177 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, 1999.
- HARLEY, J. L. **The biology of mycorrhiza**. London: Leonard Hill, 1969. 230 p.
- HARTLEY, J. *et al.* Toxic interactions of metal ions (Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> and Sb<sup>-3</sup>) in vitro biomass production of ectomycorrhizal fungi. **New Phytologist**, Cambridge, v. 137, n. 3, p. 551-562, 1997.
- JENSEN, P.; ADALSTEINSSON, S. Copper effects on active and passive Rb<sup>+</sup> influx in roots of winter wheat. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 75, n. 2, p. 195-200, 1989.
- JONES, M. D.; HUTCHINSON, T. C. The effect of mycorrhizal infection on the response of *Betula papyrifera* to nickel and copper. **New Phytologist**, Cambridge, v. 102, n. 3, p. 429-442, 1986.
- KHAN, A. G. Relationships between chromium biomagnification ratio, accumulation factor, and mycorrhiza in plants growing on tannery effluent-polluted-soil. **Environment International**, v. 26, n. 5-6, p. 417-423, 2001.
- LEYVAL, C.; TURNAU, K.; HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. **Mycorrhiza**, Secaucus, v. 7, n. 3, p. 139-153, 1997.
- LUNA, C. M.; CASANO, I. M.; TRIPPI, V. S. Nitrate reductase is inhibited in leaves of *Tricum aestivum* treated with high levels of copper. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 101, n. 1, p. 103-108, 1997.
- MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. San Diego: Academic Press, 1995. 902 p.
- MARX, D. H. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic fungi and soil bacteria. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to roots pathogenic fungi and soil bacteria. **Phytopathologist**, Saint Paul, v. 59, n. 2, p. 153-163, 1969.
- MEDVE, R. J.; SAYRE, W. G. Heavy metals in red pines, basidiomycetes sporocarps and soils on bituminous stripmine spoils. **Journal of the Pennsylvania Academy of Science**, Pennsylvania, v. 68, p. 131-135, 1994.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e**

- Bioquímica do Solo.** Lavras: Ed. UFLA, 2002. 623 p.
- NORDGREN, A.; BAATH, E.; SÖDERSTROM, B. Soil microfungi in an area polluted by heavy metals. **Canadian Journal of Botany**, Canada, v. 63, n. 3, p. 448-455, 1985.
- PANOU-FILOTHEU, H.; BOSABALIDIS, A. M.; KARATAGLIS, S. Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 207-214, 2001.
- PEROTTO, S.; BONFANTE, P. Bacterial associations with mycorrhizal fungi: close and distant friends in the rhizosphere. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 5, n. 12, p. 496-501, 1997.
- RIBEIRO-FILHO, M. R. *et al.* Metais pesados em solos de área de rejeitos de indústria de processamento de zinco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 453-464, 1999.
- RÜHLING, A.; SÖDERSTROM, B. Changes in fruitbody production of mycorrhizal and litter decomposing macromycetes in heavy metal polluted coniferous forests in North Sweden. **Water Air Pollution**, Saint Paul, v. 49, p. 375-387, 1990.
- SCHELOSKE, S.; MAETZ, M.; SCHÜBLER, A. Heavy metal uptake of *Geosiphon pyriforme*. **Nuclear instruments and Methods in Physics Research B**, Washington, v.181, n. 1, p. 659-663, 2001.
- SCHROEDER, M. Cobertura florestal do Rio Grande do Sul: Tendências e Perspectivas. In: SEMINÁRIO SOBRE A SITUAÇÃO FLORESTAL DO RIO GRANDE DO SUL, 1., 1991, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1991, p.1-9.
- SILVA, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília: EMBRAPA, 1999, 370 p.
- SILVA, R. F. **População de fungos micorrízicos e influência de ectomicorrizas na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* e *Pinus elliottii* em solo arenoso.** 2002. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.
- SILVA, R. F.; ANTONIOLLI, Z. I.; ANDREAZZA, R. Efeito da inoculação com fungos ectomicorrízicos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. MAIDEN em solo arenoso. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 3, n. 1, p. 33-42, 2003.
- SMITH, S.; READ, D. J. **Mycorrhizal Symbiosis.** London: Academic Press, 1997. 605 p.
- SOARES, I. **Níveis de fósforo no desenvolvimento de ectomicorrizas por *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch e no crescimento de mudas de eucalipto.** 1986. 51f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1986.
- SOARES, C. R. F. S. *et al.* Crescimento e nutrição mineral de *Eucalyptus maculata* e *Eucalyptus urophylla* em solução nutritiva com concentração crescente de cobre. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 12, n. 3, p. 213-225, 2000.
- SOLIOZ, M.; STOYANOV, J. V. Copper homeostasis in *Enterococcus hirae*. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 27, n. 2-3, p. 183-195, 2003.
- TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **Journal of Ecology**, Danvers, v. 63, n. 6, p. 995-1001, 1975.
- TORDOFF, G. M.; BAKER, A. J. M.; WILLIS, A. J. Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous wastes. **Chemosphere**, Ottawa, v. 41, n. 1-2, p. 219-228, 2000.