

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA**  
**SAÚDE**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE**  
**E BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**DISSERTAÇÃO**

**Título**

**Anne Caroline Barbosa de Paula Lima**

**2021**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E**  
**BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**INFLUÊNCIA DA SUBSTÂNCIA HÚMICA DE VERMICOMPOSTO EM PLANTAS**  
**DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) MICORRIZADAS SOB ESTRESSE POR CÁDMIO**

**ANNE CAROLINE BAROSA DE PAULA LIMA**

*Sob Orientação do Professor*

**Ricardo Luis Louro Berbara**

*Co-orientação do Professores*

**Andrés Calderín García**

*e*

**Orivaldo Saggin Júnior**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de concentração em Biotecnologia Aplicada.

Seropédica, RJ

Julho de 2021

É Permitida a cópia parcial ou total desta tese, desde que seja citada a fonte.

Bi Barbosa de Paula Lima, Anne Caroline , 1992-  
INFLUÊNCIA DA SUBSTÂNCIA HÚMICA DE VERMICOMPOSTO EM  
PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) MICORRIZADAS SOB  
ESTRESSE POR CÁDMIO / Anne Caroline Barbosa de Paula  
Lima. - Rio de Janeiro, 2021.  
64 f.

Orientador: Ricardo Luis Louro Berbara.  
Coorientador: Andrés Calderín García.  
Coorientador: Orivaldo Saggin Júnior.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Fitossanidade e  
Biotecnologia Aplicada, 2021.

1. Extração húmica. 2. Simbiose. 3. Metal Pesado.  
I. Luis Louro Berbara, Ricardo, 1957-, orient. II.  
Calderín García, Andrés , -, coorient. III. Saggin  
Júnior, Orivaldo , -, coorient. IV Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro. Fitossanidade e  
Biotecnologia Aplicada. V. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E BIOTECNOLOGIA**  
**APLICADA**

**ANNE CAROLINE BARBOSA DE PAULA LIMA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre Ciências.**, no curso de Pós- Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, área de concentração em Biotecnologia Aplicada

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 16 / 07 / 2021

---

Ricardo Luiz Louro Berbara Prof. Dr. UFRRJ  
(Orientador)

---

Orivaldo José Saggin Júnior Pesq. Dr. Embrapa-Agrobiologia  
(Co-orientador)

---

Paulo Sérgio Torres Briosso Prof. Dr. UFRRJ

---

Camila Pinheiro Nobre Prof Dr<sup>a</sup> UEMA

*Aos meus pais Benedita e Celso, pela dedicação e principalmente pelo incentivo e estímulo à conquista deste título.*

***Dedico***

## AGRADECIMENTOS

Neste pequeno pedaço destinado a um dos sentimentos mais importante da vida de um ser humano, considero pouco para conseguir expressar todo sentimento de gratidão para todas às pessoas que me ajudaram durante minha caminhada na pós-graduação. Dizem que gratidão vem do latim *gratus* que significada graça, sendo um agradecimento a todas as coisas boas ou ruins que acontecem na vida, servindo de aprendizado.

Diante do período difícil que a humanidade vem enfrentando, paramos e refletimos sobre a necessidade de agradecer, de ser grato e darmos valor à simplicidade da rotina. Agradeço ao criador da vida pela oportunidade de nascer e crescer nesse mundo ao lado de pessoas tão boas, que me inspiram e me incentivam a continuar a viver.

Existem dois seres humanos, Benedita e Celso, meus pais que me deram a graça da vida, me dão muito carinho e sempre me apoiaram e incentivaram nos estudos.

Aos meus ancestrais, em especial meus avós maternos, agricultores simples que buscaram dar todo o pouco que tinham para garantir o estudo da família, hoje vejo que nossa família colhe frutos de todo esforço e dedicação cultivados por eles.

Ao meu namorado e amigo, agradeço a ajuda nas tantas trocas de soluções nutritivas que fizemos juntos, e por apoiar nos momentos de fraqueza, principalmente quando eu e minha família fomos assoladas pela pandemia, foi suporte psicológico e meu companheiro na fé.

Ao meu orientador Ricardo Berbara, exemplo de educação, sempre muito atencioso e solícito.

Aos meus coorientadores Andrés García e Orivaldo Saggin, não tenho nem palavras suficientes para agradecer toda paciência que tiveram, e não foi pouca paciência. Agradeço por aceitarem-me coorientar e compartilharem seus conhecimentos comigo.

Aos laboratórios LQBS-UFRRJ tenho enorme carinho e gratidão pela convivência, pelos aprendizados, pelas alegrias. Agradeço aos meus colegas pelas ajudas nas coletas de experimentos, pelos momentos de muitos risos.

Ao laboratório de Micorrizas da Embrapa Agrobiologia, foi uma experiência incrível, aos meus colegas agradeço pelas experiências e ensinamentos trocados, em especial à pesquisadora Eliane Ribeiro e ao Itamar, pelos momentos de convivência e por sempre estarem dispostos a ajudar.

## RESUMO

BARBOSA DE PAULA LIMA, Anne Caroline. **Influência da substância húmica de vermicomposto em plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) micorrizadas sob estresse por cádmio.** 2021. f. Tese (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada) Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

O objetivo do presente trabalho de dissertação foi estudar a substância húmica íntegra (SH) extraída de vermicomposto (Vc) mediante sua caracterização e avaliação de seus efeitos sobre o desenvolvimento da cultura de arroz e o sinergismo com fungos micorrízicos sob estresse por cádmio. No Capítulo I foi estudado o comportamento da cultivar BRS Esmeralda sob concentrações crescente de  $\text{Cd}^{+2}$ , através da biomassa produzida, parâmetros morfológicos radiculares e fotossintético, verificou-se que plantas submetidas ao metal pesado tiveram seu desenvolvimento inicial afetado negativamente, as concentrações de 0,05 e 0,1 mM promoveram maiores danos à cultivar, tendo redução na produção de biomassa, e na maioria dos parâmetros radiculares. Tal resultado pode ser explicado pelo fato do metal pesado competir por sítios ativos dos nutrientes essenciais, dificultando a translocação de nutrientes pela planta. No capítulo II foi estudada as características estruturais da SH-Vc utilizando técnicas químicas e espectroscópicas. No Capítulo III foi avaliada a influência da interação da SH-Vc com FMA, na cultura do arroz submetida ao metal pesado.

**Palavras-chave:** Extração Húmica. Simbiose. Metal Pesado

## ABSTRACT

BARBOSA DE PAULA LIMA, Anne Caroline. **Influence of vermicompost humic substance on rice plants (*Oryza sativa* L.) mycorrhizal under cadmium stress.** 2021. f. Thesis (Masters in Plant Health and Applied Biotechnology) Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

The aim of this dissertation work was to study the whole humic substance (HS) extracted from vermicompost (Vc) through its characterization and evaluation of its effects on the development of rice crops and synergism with mycorrhizal fungi under cadmium stress. In Chapter I, the behavior of cultivar BRS Esmeralda was studied under increasing concentrations of  $\text{Cd}^{+2}$ , through the biomass produced, root morphological and photosynthetic parameters, it was found that plants subjected to heavy metal had their initial development negatively affected, the concentrations of 0,05 and 0,1 mM promoted greater damage to the cultivar, with a reduction in biomass production, and in most root parameters. This result can be explained by the fact that the heavy metal competes for active sites of essential nutrients, hindering the translocation of nutrients by the plant. In chapter II, the structural characteristics of SH-Vc were studied using chemical and spectroscopic techniques. In Chapter III, the influence of the interaction of SH-Vc with AMF on rice culture subjected to heavy metal was evaluated.

**Keywords:** Humic Extraction. Symbiosis. Heavy metal



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Modelo esquemático dos processos de transporte de Cd do solo aos grãos de arroz .	6
<b>Figura 2.</b> Estrutura micorrízica arbúsculo no interior da célula vegetal.....	9
<b>Figura 3.</b> Produção de biomassa em arroz cv. BRS Esmeralda sob diferentes níveis de Cd+2. MFPA (matéria fresca da parte aérea), MSPA (matéria seca da parte aérea), MSR (matéria seca da raiz), MFR (matéria fresca da raiz).....	24
<b>Figura 4.</b> Efeito de diferentes concentrações de Cd <sup>+2</sup> na morfologia radicular de plantas de arroz cv. BRS Esmeralda. (A) área total; (B) volume total; (C) número de raízes; (D) total de bifurcações; (E) diâmetro médio total; (F) comprimento total da raíz.....	26
<b>Figura 5.</b> Efeito de diferentes concentrações de Cd+2 nas classes de morfologia radicular, classificadas em superfina (0,5-1,5 mm), finas (1,5-3,5 mm) e grossas (>3,5mm). Área total (AT), volume total (VT), número de raízes (NR), comprimento total de raiz (CTR).....	27
<b>Figura 6.</b> Intensidade de fluorescência da clorofila a obtida da espécie vegetal submetida às doses diferentes. ....	29
<b>Figura 7.</b> Parâmetros do Teste JIP obtidos da (espécie vegetal) submetida a diferentes doses de metal, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1). ....	29
<b>Figura 8.</b> Dose resposta das variáveis mensuradas a cada 24h no intervalo de 72-144h em plântulas de arroz cv. BRS esmeralda sob doses crescentes de substância húmica extraída de vermicomposto. (A) Matéria seca da parte aérea (MSPA); (B) Matéria fresca da parte aérea (MFPA); (C) Matéria seca da raiz (MSR); (D) Matéria fresca da raiz (MFR). ....	40

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais parâmetros do Teste JIP (Adaptada de: STRASSER et al., 2004 & YUSUF et al., 2010).....	22
<b>Tabela 2.</b> Intensidades de fluorescência da clorofila a nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas da (espécie vegetal) submetida as doses de metais.....	29
<b>Tabela 3.</b> Massa da parte aérea fresca (MFPA) e seca (MSPA), e das raízes frescas (MFR) e secas (MSR) de arroz sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (SHCom) e ausência (SHSem) de substâncias húmicas. .	53
<b>Tabela 4.</b> Massa da parte aérea fresca (MFPA) e seca (MSPA), e das raízes frescas (MFR) e secas (MSR) de arroz sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (CdCom) e ausência (CdSem) de cádmio.....	54
<b>Tabela 5.</b> Massa da parte aérea fresca (MFPA) e seca (MSPA), e das raízes frescas (MFR) e secas (MSR) de arroz sob tratamentos de presença e ausência de substâncias húmicas (SH) e cádmio no substrato. ....	55
<b>Tabela 6.</b> Altura, teor de fósforo na parte aérea (T-P-PA), colonização micorrízica e número de esporos sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (SHCom) e ausência (SHSem) de substâncias húmicas. ....	56
<b>Tabela 7.</b> Altura, teor de fósforo na parte aérea (T-P-PA), colonização micorrízica das raízes e número de esporos sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (CdCom) e ausência (CdSem) de cádmio.....	57
<b>Tabela 8.</b> Altura, teor de fósforo na parte aérea (T-P-PA), colonização micorrízica das raízes e número de esporos sob diferentes tratamentos de presença e ausência de substâncias húmicas (SH) e cádmio no substrato. ....	57
<b>Tabela 9.</b> Teor de cádmio nas folhas (T-Cd-F) e raízes (T-Cd-R) e de ferro nas folhas (T-Fe-F) e raízes (T-Fe-R) sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (SHCom) e ausência (SHSem) de substâncias húmicas. .	58
<b>Tabela 10.</b> Teor de cádmio nas folhas (T-Cd-F) e raízes (T-Cd-R) e de ferro nas folhas (T-Fe-F) e raízes (T-Fe-R) sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (CdCom) e ausência (CdSem) de cádmio.....	59
<b>Tabela 11.</b> Teor de cádmio nas folhas (T-Cd-F) e raízes (T-Cd-R) e de ferro nas folhas (T-Fe-F) e raízes (T-Fe-R) sob diferentes tratamentos de presença e ausência de substâncias húmicas (SH) e cádmio no substrato. ....	59

## LISTA DE ABREVIACÕES

**AH** Ácidos Húmicos

**Cd** Cádmio

**FMA** Fungo Micorrízico Arbuscular

**FTIR** “Fourier Transform Infrared”- Infravermelho com Transformada de Fourier

**IHSS** “Internacional Humic Substances Society”- Sociedade Internacional de Substância Húmica

**SH** Substâncias Húmicas

**SH-Vc** Substância Húmica de Vermicomposto

**Vc** Vermicomposto

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1	Aspectos Gerais da Cultura do Arroz. ....	3
2.2	Efeitos do Cádmio na Cultura do Arroz .....	4
2.3	Substâncias Húmicas .....	7
2.4	Simbiose Micorrízica Arbuscular .....	8
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	11
4	CAPÍTULO I.....	17
	EFEITO DO CÁDMIO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE ARROZ .....	17
4.1	RESUMO.....	18
4.2	ABSTRACT.....	19
4.3	INTRODUÇÃO .....	20
4.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	21
4.4.1	Material vegetal e condições gerais de experimentação .....	21
4.4.2	Avaliação da cinética de emissão de fluorescência transiente da clorofila a (O-J-I-P) .....	21
4.4.3	Parâmetros morfológicos radiculares .....	23
4.4.4	Avaliação da produção de biomassa .....	23
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	24
4.5.1	Efeito das diferentes concentrações de Cd <sup>+2</sup> no desenvolvimento vegetal e na arquitetura radicular. ....	24
4.5.2	Efeito na fluorescência transiente da clorofila a.....	28
4.6	CONCLUSÃO .....	30
4.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	31
5	CAPÍTULO II.....	34
	EFEITO DA SUBSTÂNCIA HÚMICA ISOLADA DE VERMICOMPOSTO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO ARROZ .....	34
5.1	RESUMO.....	35
5.2	ABSTRACT.....	36
5.3	INTRODUÇÃO .....	37

5.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	38
5.4.1 Produção e origem do vermicomposto estudado.....	38
5.4.2 Extração de substância húmica íntegra .....	38
5.4.3 Material vegetal e condições gerais de experimentação .....	38
5.4.4 Parâmetros de desenvolvimento vegetal .....	39
5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.5.1 Produção de biomassa .....	40
5.6 CONCLUSÃO .....	44
5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45
6 CAPÍTULO III .....	47
INTERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA HÚMICA E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DA CULTURA DE ARROZ SOB ESTRESSE POR CÁDMIO .....	47
6.1 RESUMO.....	48
6.2 ABSTRACT.....	49
6.3 INTRODUÇÃO .....	50
6.3 MATERIAL E MÉTODOS .....	51
6.3.1 Material e condições gerais de experimentação .....	51
6.3.2 Parâmetros de desenvolvimento vegetal .....	51
6.3.3 Determinação química no material vegetal.....	51
6.3.4 Determinação da densidade de esporos (DE).....	52
6.3.5 Avaliação da colonização micorrízica.....	52
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	53
6.4.1 Efeitos da inoculação micorrízica e substância húmica no desenvolvimento vegetal. .....	53
6.5 CONCLUSÃO .....	60
6.6 REFERÊNCIAS.....	61
7 CONCLUSÃO GERAL .....	63

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Tradicionalmente o Brasil tem o seu pilar econômico estruturado na agricultura, carecendo para sua sustentação a intensificação de práticas agrícolas que visam o aumento da produtividade no campo. Uma das práticas agrícolas bastante empregadas, consiste no uso de fertilizantes, principalmente os fosfatados, devido aos solos brasileiros apresentarem baixa disponibilidade de fósforo, tal fenômeno ocorre pela presença de oxi-hidróxido de Fe e Al presentes na fração argila (RESENDE et al., 2005), causando adsorção do P à fração mineral e conseqüentemente menor disponibilidade do elemento à planta.

Limitações na disponibilidade de tal elemento resultam em diversos danos à planta principalmente a redução da produtividade, pois o fósforo desempenha papel importante no metabolismo vegetal, como respiração, fotossíntese e transferência de energia (GRANT et al., 2001).

A aplicação de adubos fosfatados é uma prática maciçamente empregada na busca de suprir a necessidade de fósforo (P) à planta e contribuir ao desenvolvimento vegetal, porém pode causar danos à agricultura. O uso de fertilizantes fosfatados constitui uma das principais fontes de contaminação antrópica de cádmio (Cd) na agricultura, cuja obtenção desse tipo de fertilizante, dá-se por meio de extração de rochas fosfáticas (SAUEIA, 2006).

Os minérios de fosfato capturam de forma eficiente os cátions, e por este motivo podem apresentar metais pesados e outras impurezas, sendo uma característica preocupante sua utilização no ambiente (KNOX; KAPLAN; PALLER, 2006). Embora a concentração de cádmio presente nesses fertilizantes seja variável, em longo prazo resulta na elevação de sua concentração em solos agrícolas (GARBUSU & ALKORTA, 2001).

O cádmio é considerado um dos elementos mais ecotóxicos que causa efeito sobre processos biológicos de animais e plantas (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 2000; BENAVIDES et al., 2005). No solo pode ser encontrado naturalmente com teor variando entre 0,01 a 3,0 mg Kg<sup>-1</sup> (DOMINGUES, 2009).

De acordo com Taylor & Percival (2001), entre 50% a 90% do Cd na solução do solo está na forma de íon livre Cd<sup>+2</sup> que é prontamente disponível para captação pelas plantas. Nas plantas o cádmio pode influenciar na absorção de elementos minerais essenciais, além de reduzir o crescimento das raízes, inibir a abertura estomática, taxa fotossintética, transpiração, dentre outros danos (PÁL et al.).

A exposição humana ao cádmio ocorre em geral, por meio de ingestão de alimento contaminado, podendo acarretar em danos irreversíveis, principalmente, disfunções renais, ósseas e respiratórias (KEMERICH et al., 2013; PAN et al., 2010). Um dos primeiros registros históricos de contaminação por cádmio em alimento ocorreu em 1950 no Japão a partir de águas de irrigação em plantação de arroz proveniente de efluentes de mineração, acarretou no desenvolvimento da doença *Itai-itai*, caracterizada por extrema dor nos ossos devido a osteomalácia (amolecimento dos ossos), osteoporose e lesão renal (TAKEDA, 2015; NORBERG et al., 2007).

Os estudos dos métodos que impeçam ou reduzam a captação do cádmio pelas plantas apresentam grande importância para a segurança ambiental, podendo evitar a introdução do metal pesado na cadeia alimentar (PINTO, 2016). Diversas pesquisas demonstram que as substâncias húmicas e suas frações podem ser empregadas na remediação do cádmio, reduzindo os riscos de absorção deste elemento pelas plantas (BI et al., 2019; MENG et al., 2017), sua interação com o metal pesado, substâncias químicas orgânicas de origem

antropogênica, dentre outros contaminantes varia de acordo com sua origem e diversidade estrutural.

Segundo Piccolo (2001) as substâncias húmicas possuem estrutura supramolecular, em que diversas moléculas de pequeno tamanho e de diversas origens se arranjam em nível organizacional estrutural supramolecular. Diversos estudos apontam a ação benéfica da substância húmica no desenvolvimento vegetal, melhorando a arquitetura radicular, produção vegetal, na nutrição mineral de plantas e na proteção a estresse (RODDA et al., 2006; CANELLAS et al., 2002; FAÇANHA, et., 2002).

Outra biotecnologia que vem sendo estudada, são os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) importante simbiote que possibilita o maior acesso ao fósforo presente na solução do solo pela planta, têm importante papel nutricional nos solos tropicais, onde apresentam deficiência P (SANCHEZ & SALINAS, 1981).

Diante do exposto, este trabalho tem como hipótese que a substância húmica íntegra extraída de vermicomposto pode regular mecanismos de defesa na planta de arroz micorrizado sob estresse por cádmio.

O objetivo geral deste estudo, consiste em avaliar a influência das características químicas das substâncias húmicas de vermicomposto, nos aspectos morfológicos e nutricionais da planta e na interação com FMA em plantas de arroz sob estresse por cádmio.

Os objetivos específicos foram organizados em capítulos com intuito de:

- a.) Determinar a dose máxima tolerável de  $\text{Cd}^{+2}$  em arroz cv. BRS Esmeralda, através de diferentes concentrações de cádmio;
- b.) Determinar a dose-resposta de substância húmica, a partir de seus efeitos no crescimento inicial da planta;
- c.) Caracterizar a influência da interação substância húmica x micorriza no estabelecimento e no desenvolvimento da simbiose micorrízica na cultura do arroz;
- d.) Analisar os efeitos da interação das substâncias húmicas a partir de parâmetros morfológicos e acúmulo de nutrientes na planta.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos Gerais da Cultura do Arroz.

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma planta monocotiledônea da família *Poaceae*, possivelmente originária de regiões tropicais da Ásia. É uma espécie autógama e, portanto de difícil polinização cruzada e dependente do genótipo e do ambiente (MAGALHÃES JÚNIOR, 2007). Este cereal é rico em vitaminas, proteínas, fibras e carboidratos, representa importante base alimentícia humana por ser a principal fonte diária de calorias para mais da metade da população mundial (FAO, 2021; BASSINELLO et al., 2017; PEREIRA, 2014).

O consumo desse cereal está associado a aspectos econômicos e culturais. No continente Asiático o arroz é considerado um alimento tradicional e a sua produção se concentra principalmente nos países da China, Índia e Indonésia, sendo o terceiro cereal mais produzido no mundo, ficando atrás apenas do milho e do trigo (WANDER, 2014; BRONDANI et al., 2006; FAO, 2021). Estima-se que em 2050 a produção de arroz será dobrada para atender a demanda mundial (GUIMARÃES et al., 2006)

O Brasil é o maior produtor de arroz no Ocidente, ocupando a nona posição no cenário mundial dos países produtores de arroz, esse cereal compõe também, a maior parte da dieta alimentar dos brasileiros, por aqui predominam a produção e o consumo do arroz branco do tipo 1 (um), classificado como longo-fino (PEREIRA, 2014).

O estado do Rio Grande do Sul destaca-se como o maior produtor nacional de arroz, seguido por Santa Catarina. Esses dois estados juntos somam 70% de tudo que é produzido no país. Somam-se a produção de outras regiões do Centro-Oeste (Mato Grosso e Goiás); Nordeste (Piauí e Maranhão) e Norte (Tocantins, Pará, Rondônia) do país (CONAB, 2021).

São considerados dois sistemas de produção na orizicultura: o de várzeas ou irrigado, onde os produtores aproveitam as águas de rios nas suas margens (vazantes), tendo o controle da lâmina d'água na lavoura ou em áreas sistematizadas (irrigação), onde a cultura recebe água por aspersão. Outro sistema de produção é o de sequeiro, onde a demanda hídrica é suprida apenas com a água das chuvas. O arroz irrigado possui maior volume de produtividade, enquanto o de terras altas é produzido num maior número de estados (CONAB, 2021).

O cultivo do arroz irrigado é responsável por 81,4% da produção brasileira, esse sistema é conduzido com maior aporte tecnológico, com o uso de cultivares melhoradas geneticamente, sistema de irrigação, insumos agrícolas e solos de alta fertilidade, o que favorece as altas produtividades. Já o cultivo de arroz de sequeiro tem reduzido consideravelmente a sua área de produção no país. Esta queda está relacionada ao menor potencial produtivo, uma vez que recebe menos insumos tecnológicos e está mais sujeito a intempéries, apresentando maior risco econômico (CONAB, 2016; RICARDO, 2010).

Para mudar esse quadro, investimentos têm sido realizados desde a década de 1990, principalmente com a obtenção de cultivares tolerantes à seca, como no caso da cultivar de arroz BRS Esmeralda, desenvolvida pela Embrapa. Esta cultivar conferiu ampla adaptação e estabilidade de cultivo nas principais regiões produtoras do Brasil, apresentando alta produtividade e maior tolerância a veranicos em relação às demais cultivares do mercado,



além de ter boa aceitação dos agricultores, sendo registrada para o plantio nos seguintes estados: GO, MT, RO, PA, RR, TO, MA, PI e MG (EMBRAPA, 2014).

O último levantamento da safra da cultura do arroz 2020/2021 estima que a área cultivada seja de 1.705,3 mil hectares, indicando incremento de 2,4% em relação à 2019/2020. No entanto, a safra será 2,5% menor que a anterior, devido à redução da produtividade (-5,4%), que apesar do atual preço recorde do arroz, algumas regiões como o Rio Grande do Sul vêm sofrendo com a seca e com os elevados preços dos grãos que competem por área como as culturas da soja e do milho (CONAB, 2021).

No cultivo de arroz em terras altas ou de sequeiro a dependência de chuva limita a produção e a ocorrência de veranicos durante a estação chuvosa, podendo comprometer a lavoura (CRUSCIOL et al., 2000), atualmente a produtividade média do arroz de sequeiro alcança  $2.375 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , enquanto a produção do arroz irrigado é de  $7.552 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  (CONAB, 2021).

Ressalta-se que para a obtenção de produtividade satisfatória é extremamente importante o conhecimento nutricional da cultura do arroz. Quanto à exigência nutricional, o nitrogênio (N) é um dos nutrientes que mais limita a produtividade do arroz, sendo responsável pelo aumento da área foliar da planta, melhorando, assim, a eficiência de interceptação da radiação solar e a taxa fotossintética da planta, o que reflete positivamente na produtividade do arroz (FAGERIA & BARBOSA FILHO, 2006).

Em solos onde é praticada a orizicultura, têm como característica baixa concentração de P na solução do solo, limitando, assim, a produtividade do arroz. A maior parte do P solúvel que é aplicado ao solo é adsorvido aos óxidos de ferro e alumínio ou é precipitado no solo, tornando-se indisponível às plantas. O P exerce vários efeitos na cultura do arroz, sendo os mais importantes o aumento dos componentes da produtividade, em especial o número de panículas por área e, conseqüentemente, no aumento da produtividade da cultura do arroz. A deficiência de P reduz o perfilhamento e prolonga o ciclo da cultura (FAGERIA & BARBOSA FILHO, 2006).

Outro elemento essencial na cultura, principalmente nas cultivares modernas é o potássio (K), nutriente de maior acúmulo, considerado essencial para vários processos fisiológicos e bioquímicos que ocorrem na planta. A deficiência de K na cultura de arroz não é tão comum como ocorre com o N e P. A maior parte do K extraído pela cultura do arroz fica na palha. Ao permanecer na superfície ou ser incorporada ao solo, pode tornar-se disponível às plantas. Entretanto, A deficiência de K resulta na redução do crescimento da planta (FAGERIA & BARBOSA FILHO, 2006).

A disponibilidade dos elementos essenciais para o bom desenvolvimento vegetal, sofre influência do pH do solo, principalmente no sistema de sequeiro em que os solos são geralmente ácidos necessitando de correção. A produtividade da lavoura está associada a um conjunto de manejo adotado que é resultado de empenho de pesquisadores no desenvolvimento de cultivares altamente produtivas, contudo as mesmas possuem elevada exigência nutricional.

Vale salientar que há uma tendência mundial na busca de uma produção mais sustentável. Apesar de diversas pesquisas aplicadas ao melhor aproveitamento na absorção de nutrientes, ainda são escassos os inoculantes com registro para a cultura, tendo apenas somente um inoculante micorrízico registrado comercialmente.

## **2.2 Efeitos do Cádmio na Cultura do Arroz**

O termo metal pesado, vem sendo utilizado para definir grupos de metais de massa atômica relativamente alta ( $> 5 \text{ g cm}^{-3}$ ), destacam-se os elementos Pb, Cd, Hg e As, estes não possuem função nos organismos e causam sérios problemas de toxicidade nos animais e vegetais em qualquer concentração (ALLOWAY, 2013).

O cádmio ( $\text{Cd}^{+2}$ ) é um metal pesado ( $n= 48$ ), altamente tóxico, solúvel em água, bioacumulativo na cadeia trófica e persistente no ambiente por vários anos. É utilizado na fabricação de baterias, pigmentos, estabilizadores para plásticos e componentes eletrônicos. Considerado não essencial, por não apresentar nenhuma função aos organismos vivos, tem gerado diversos estudos por ser um dos metais pesados mais ecotóxicos (ZENTENO, 2012).

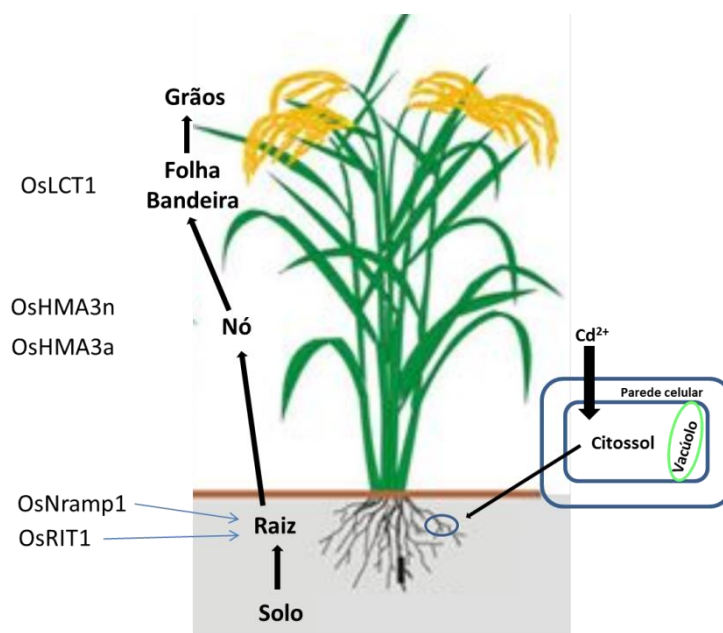
Amplamente distribuído pela crosta terrestre, geralmente associado a minérios de Zn, Cu e Pb, encontrado naturalmente nos solos em teores baixos entre 0,01 a 3,0  $\text{mg Kg}^{-1}$  (DOMINGUES, 2009; PAIS & JONES JUNIOR 2000). O aumento da concentração de cádmio no solo ocorre pela ação do intemperismo de rochas fosfáticas ou através da adição de sedimentos vulcânicos, porém 90% da inserção do metal pesado advém da ação antrópica (PAN et al., 2010; SILVA et al., 2010).

Na agricultura, o uso indiscriminado e excessivo de insumos agrícolas, como herbicidas e principalmente adubos fosfatados são relevantes na adição do metal pesado. Os adubos fosfatados possuem elevado teor de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , indicados aos solos com baixa fertilidade, a matéria prima é constituída basicamente de minérios de fosfatos, estes capturam cátions e por este motivo podem conter altas concentrações de metais e outras impurezas (KNOX et al., 2006).

O cádmio é encontrado adsorvido por atração eletrostática em sítios de cargas negativas das argilas, matéria orgânica e óxidos hidratados, precipitados com carbonato, bicarbonato e fosfatos, complexados à matéria orgânica ou ainda em solução, na forma iônica ou complexada (ADRIANO, 1986). Segundo McBride (1994), a solubilidade do íon de Cd depende do pH do meio em que encontra-se presente, em pH abaixo de 6,0, íons livres de Cd formam ligações fracas com óxidos e matéria orgânica, proporcionando de média a alta solubilidade e mobilidade, entretanto em pH acima de 7,0 limita a sua solubilidade, devido a precipitação com  $\text{CaCO}_3$ , formando  $\text{CdCO}_3$ . Contudo em solos neutros e alcalinos a solubilidade e disponibilidade deste elemento é baixa.

O primeiro registro de grande contaminação desse metal ocorreu no Japão por volta de 1960, no consumo de arroz contaminado ocasionando a doença Itai-itai, cuja expressão significa “dor nos ossos”, caracterizada por fortes dores no corpo devido à osteomalácia (amolecimento dos ossos), e pelas múltiplas fraturas associada aos danos nos túbulos renais em que houve aumento da secreção de cálcio e fósforo pela urina e diminuição da hidroxilação de metabólitos de vitamina D. O cádmio causa diversos danos à saúde, mesmo em baixas concentrações, sendo os efeitos patogênicos além de graves, irreversíveis, são causadas disfunções renais, ósseas e respiratórias. (TAKEDA, 2015; KEMERICH et al., 2013; FONTAINE et al., 2008; NORDBERG et al., 2007).

Recentemente, diversos estudos utilizam o arroz como planta modelo de cereal para entendimento do comportamento fisiológico e molecular no transporte de Cd (URAGUCHI & FUJWARA, 2012). O Cd presente na solução do solo passa por vários processos de transportes até seu acúmulo nos grãos (Figura 1), quando absorvido pelo sistema radicular é translocado aos brotos via xilema, da panícula ao grão o transporte dá-se pelo floema (URAGUCHI et al., 2009; TANAKA et al., 2007). Recentemente, vários transportadores foram identificados como transportadores de Cd em arroz (URAGUCHI et al., 2012).



**Figura 1** Modelo esquemático dos processos de transporte de Cd do solo aos grãos de arroz

A fitotoxicidade causada pelo metal pesado e a capacidade de tolerância ao Cd estão diretamente ligadas à forma química de absorção e o local de compartimentação celular (YU et al., 2012; ZENG et al., 2011). O cádmio se distribui em diferentes formas químicas, uma vez absorvido pelas plantas, podendo ser em formas inorgânicas, solúveis em água, pectato, oxalato, ligado em proteínas, e na forma de fosfato não dissolvido (LAI, 2015). Por exemplo, a forma solúvel em água e inorgânicas, indicam maior toxicidade e mobilidade na célula (FU et al., 2011). As diferentes formas de distribuição do Cd entre as frações do tecido podem explicar as diferenças na sensibilidade ao Cd entre as diferentes espécies de plantas. A retenção do Cd nas paredes celulares da raiz, a compartimentação do Cd em vacúolos e o transporte suprimido do Cd das raízes aos brotos são os mecanismos mais importantes responsáveis pela desintoxicação de Cd em plantas de arroz (LIU et al. 2014).

Considerando que a ingestão do Cd através do arroz é uma preocupante situação, reduzir a translocação e o acúmulo nos grãos são estratégias importantes para diminuir os danos na cadeia alimentar.

O plantio de cultivares que possuem tolerância ao Cd e que apresentem baixa translocação do metal ao grão torna-se uma medida inicial importante para mitigar os danos provocados pelo metal pesado ao consumidor. As cultivares de arroz possuem capacidade de tolerância diferente ao Cd, além do fator genético, os exsudatos radiculares podem afetar a biodisponibilidade presente na relação solo-planta. O exsudato radicular é composto por ácidos orgânicos e aminoácidos que contribuem em diversos processos da absorção de nutrientes.

O arroz de sequeiro torna-se mais suscetível ao dano por Cd, em contrapartida, em áreas de inundação o solo apresenta-se em condição redutiva e grande parte do Cd presente no solo forma CdS com baixa solubilidade (IMURA & ITO, 1978).

## 2.3 Substâncias Húmicas

O sucesso da produtividade agrícola está altamente ligado ao solo, principalmente pela presença de materiais orgânicos presentes nele. A matéria orgânica do solo (MOS) apresenta-se como um sistema complexo de substâncias, cujo seu processo de formação ocorre através da adição de resíduos orgânicos de naturezas diversas e por transformação contínua sob ação de fatores biológicos, químicos e físicos (CAMARGO et al., 1999).

Segundo Berg & Laskowaki (2006), MOS é construída por diversos resíduos que contenham carbono como microrganismos vivos e mortos, material animal e vegetal em diferentes estágios de decomposição, e a fração mais estável denominada húmus. A MOS é considerada indicadora de qualidade do solo devido sua forte influência nas características físicas, químicas e biológicas do solo, que conseqüentemente interferem na nutrição das plantas promovendo o aumento da produtividade agrícola (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006).

A presença de matéria orgânica contribui na melhoria da qualidade de diversos aspectos do solo, atuando na agregação e porosidade, melhorando a capacidade de retenção de água e disponibilidade de nutriente, além de favorecer a atividade microbiana.

Stevenson (1994) separou a matéria orgânica do solo (MOS) em dois grandes grupos, denominados substâncias húmicas e substâncias não-húmicas. As substâncias não-húmicas são aquelas que apresentam características definidas e distinguíveis, tais como carboidratos, aminoácidos, ceras, gordura dentre outros, enquanto as substâncias húmicas (SH) apresentam características químicas mais complexas e indefinidas, composta por diversos compostos orgânicos de alta massa molecular, tendo partes com características aromáticas e alifáticas.

A SH é encontrada largamente em toda a superfície terrestre, ocorrendo em quase todos ambientes terrestre e aquáticos (SCHNITZER, 1978). O conhecimento da substância húmica não é um estudo recente, porém as pesquisas sobre a conhecida substância húmica tem-se tornado mais forte e relevante somente agora, as primeiras publicações sobre as SH relatadas por Achard na Alemanha no ano de 1786 sobre a extração de ácido húmico (AH) de turfa, em seguida a realizada a extração do mesmo em resíduos vegetais por Vauquelin. Somente entre o período de 1829 a 1837, Sprengel observou que solos alcalinos tinham maior abundância de AH, tornando-os mais férteis, iniciando os estudos de compreensão da origem e composição das SH (SOUZA & SANTANA, 2014).

Oden (1919) criou a nomenclatura de ácido fúlvico (AF), ácido húmico(AH) e humina (HU), surgimento da classificação das da SH. Anos seguintes, em 1960 começou o emprego da ressonância magnética nuclear (RMN) para melhor compreensão da estrutura e funcionalidades das SH (SANTOS et al., 2013).

Apesar dos longos anos de estudos das SH, ainda não foi possível definir o real modelo estrutural que possa explicar a composição química, estrutural, forma e tamanho das SH. Porém três modelos não mais utilizados para explicar a estrutura da SH, são eles: o modelo macromolecular proposto por Kononova (1982) e Stevenson (1994), tendo a SH considerada um polieletrólito de ácido fraco; o modelo micelar proposto por Wershaw (1993) neste modelo foi proposto que a SH compõe a macroestrutura e as propriedades macromoleculares são derivadas de associações de espécies pequenas moleculares em estruturas de micelas; o último modelo proposto desdobrado por Piccolo (2002), define a SH como associação supramolecular formado de pequenas moléculas heterogêneas estabilizadas por ligações fracas, podendo ser rompidas por ácidos orgânicos.

As SHs são constituídas por ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e Humina (HU), classificados com base na solubilidade em meio ácido ou alcalino (ROSA et al., 2009). As HU encontra-se fortemente ligada à fração mineral do solo, insolúvel em qualquer pH (SOUZA & SANTANA, 2014). Os AH possuem predominantemente compostos hidrofóbicos

estabilizado em pH neutro (ROCHA, 2014). Os AF possuem menor peso molecular, maior polaridade e maior solubilidade (FONTANA et al., 2011).

## 2.4 Simbiose Micorrízica Arbuscular

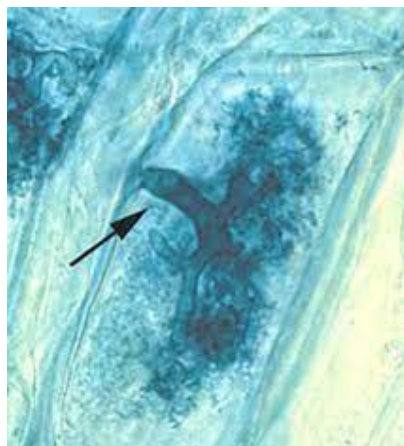
As interações simbióticas são importantes para a manutenção dos ecossistemas, pois consistem em associações de indivíduos de espécies diferentes, cuja relação beneficia pelo menos um dos envolvidos. Quando ambos indivíduos envolvidos são beneficiados pela associação, denomina-se simbiose mutualística, ocorrendo o aumento da performance nos organismos em comparação a situação sem estabelecimento da simbiose (BEGON, 2006).

Na associação mutualística encontram-se as micorrizas, termo derivado do grego (*mykes*= fungo e *rhyza*= raízes), para designar a principal associação entre fungos cosmopolita do solo e plantas, que tem como benefício troca de nutrientes (READ; PEREZ-MORENO, 2003).

Inicialmente, os fungos micorrízicos foram dissociados em dois grupos, são eles: endomicorrizas e ectomicorrizas. A principal diferença entre os dois refere-se à localização das estruturas de colonização nas células vegetais. As endomicorrizas possuem estruturas no interior das células vegetais, e as ectomicorrizas apresentam estruturas inter-celular (FRANK, 2005). Embora estes dois termos sejam usualmente utilizados, pesquisas constataram a grande diversidade micorrízica, tornando a classificação insuficiente para categorizá-la adequadamente (VALADARES et al., 2016). Assim, Haley & Smith (1983), propõem sete tipos de micorrizas seguintes: ectomicorrizas, ectendomicorrizas, arbusculares, ericoides, arbustoide e orquidoide.

Dentre os tipos de micorrizas citadas, as arbusculares representam a simbiose mais generalizada, formada entre fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e plantas vasculares. Evidências fósseis indicam que as primeiras plantas terrestres foram colonizadas por fungos que apresentavam estruturas miceliais e esporos semelhantes aos atuais micorrizas arbusculares (MA) (REDECKER et al., 2000). Sendo assim, fica evidente a capacidade do FMA em formar associações com plantas no início da evolução vegetal, e hoje a capacidade de associação está distribuída amplamente em todo reino vegetal, incluindo angiospermas, gimnosperma, pteridófitas e algumas briófitas. Dentre as angiospermas cerca de 80% das espécies são capazes de formar simbioses micorrízicas arbusculares. (BATTINI et al., 2017;

Pertencente ao Filo Glomeromycota, os FMAs são organismos biotróficos obrigatórios que se associam a diversas raízes de plantas vasculares terrestres, epífita, aquáticas e talos de briófitas (SOUZA et al., 2010). As estruturas fúngicas que definem este tipo de micorriza são hifas inter e intracelulares, micélio extrarradicular, esporos e vesículas intra e extracelulares, estas denominadas células auxiliares (SMITH & SMITH, 2012). A principal estrutura que caracteriza o FMA são os arbúsculos (Figura 2), formados por hifas altamente ramificadas que colonizam o interior das células do córtex radicular. Esta estrutura ocupa área entre a parede celular e a membrana plasmática, através de invaginações, e são consideradas o maior sítio de intercâmbio de água, nutrientes e carbono entre o fungo e a planta (STÜRMER & SIQUEIRA, 2013).



**Figura 2.** Estrutura micorrízica arbúsculo no interior da célula vegetal.

De modo geral, a interação entre os indivíduos possibilita a absorção de nutrientes pela planta, principalmente o P elemento pouco disponível nos solos tropicais, através dos prolongamentos das hifas extracelulares aumentando a área de contato com a solução do solo o que seria impossível pelas raízes devido ao seu diâmetro maior (JAKOBSEM, 1999). Em contrapartida a planta favorece o fungo ao suprir a demanda de carbono na forma de sacarose, uma vez que os FMAs não conseguem degradar o C presente no solo (LIU, 2010). Ao terem acesso às fontes de carbono da planta os FMAs funcionam como dreno do carbono da atmosfera para o solo, em resposta a planta aumenta a taxa fotossintética (BERBARA et al., 2006). A contribuição das hifas não limita-se à absorção de nutrientes e incremento da biomassa, sua capacidade de formar rede interligando as partículas contribui na estrutura e estabilidade do solo, por sua vez, são funções que interferem na mobilidade de nutrientes, disponibilidade hídrica, penetração das raízes e potencial erosivo dos solos. O micélio externo é responsável pela exsudação de glicoproteínas hidrofóbicas denominada glomalina, capaz de permanecer no solo até sua mineralização por cerca de 42 anos, servindo de aporte de C no solo. Análoga à função das hifas na qualidade física do solo, a glomalina promove condições favoráveis ao equilíbrio da microbiota do solo, podendo ser empregada como indicador de qualidade e manejo do solo (PURIN & RILLING, 2008).

A trama micelial desenvolvida pelo fungo é capaz de formar conexões hifais entre os sistemas radiculares de plantas vizinhas, podendo ser espécies semelhantes ou distintas. A interconexão entre as hospedeiras possibilita a troca de nutrientes e sinais. Quando uma planta sofre fitomoléstias, as outras interligadas recebem o sinal, e ativam mecanismos de defesa (SELOSSE et al., 2006). As consequências dessa trama micelial para a competição interespecífica em comunidades vegetais sugerem que ela seja elemento importante na definição de sucessão vegetal (BERBARA et al., 2006).

Apesar das evidências de vantagens da associação micorrízica, nem todas as espécies vegetais desenvolvem associação com o fungo. Quanto à dependência micorrízica, estas podem ser classificadas em obrigatórias, facultativas ou não-micorrízica (Smith & Read, 1997).

Plantas pertencentes às famílias Juncaceae, Caryophyllaceae e Brassicaceae não fazem associação micorrízica, em geral apresentam sistema radicular bem desenvolvido, composto por muitas raízes finas e pelos radiculares.

Outras espécies não crescem na ausência de micorrizas, principalmente em solos com baixos teores de nutrientes. Inúmeras espécies vegetais são dependentes de micorrizas para absorção de P, como mandioca e batata-doce.

O caráter facultativo da associação pode ser observado em condições com alta disponibilidade de P, espécies de dependência facultativa se beneficiam da simbiose apenas em ambientes de baixa fertilidade.

Para o estabelecimento da simbiose, primeiramente é necessário a emissão de sinais pela planta (LAPARRE et al., 2014), até o momento a compreensão da liberação e percepção desses sinais na associação ainda são escassas, mas sabe-se que a exsudação de determinados compostos pelas raízes são capazes de estimular a ramificação das hifas (LAMBASIS; RAMOS, 2010). Um conjunto de experiências de purificação concluiu que os exsudados continham diversos compostos de natureza hidrofóbica e hidrofílica (NAGASHI & DOUDS, 2000; NAGASHI & DOUDS, 1999).

Obrigatoriamente a presença da hospedeira torna-se importante para intensa ramificação das hifas, pois em sua ausência o crescimento hifal cessa (KOSKE, 1891).

Para que a simbiose seja efetivada são necessários vários eventos. De acordo com SIQUEIRA (1994), a infecção é iniciada logo após o contato de um propágulo com a raiz, as hifas se diferenciam em apressório, estrutura que auxilia na penetração, permitindo a entrada do FMA no apoplasto da hospedeira. Esse primeiro contato se dá pela pressão mecânica e degradação da parede celular por enzimas produzidas pelo fungo. Após a penetração, o fungo forma enovelamentos denominados arbúsculos, que colonizam o apoplasto e células do córtex denominados arbúsculos.

A eficiência da colonização micorrízica está atrelada a fatores bióticos e abióticos. Dentro dos fatores abióticos a temperatura do solo influencia diretamente a germinação, penetração e sobrevivência dos esporos de FMA, as espécies de FMA apresentam limitações diferentes quanto à temperatura do solo. O estabelecimento micorrízico é afetado por características físico-químicas do solo (BORNO et al., 2018)

Moreira & Siqueira (2006) observaram na presença de fósforo e potássio favorecimento da poliferação de maior número de espécies de FMA no solo, possibilitando o equilíbrio na comunidade de FMA. O ferro e o cobre tem sua ação na penetração fúngica de acordo com a concentração, interferindo positivamente na micorrização ou atuando como fungistático em concentrações mais elevadas (HEPPER, 1979).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANO, D. C. **Trace elements in the terrestrial environment**. New York. Springer Verlag, 533 p, 1986.

Alloway, B.J. **Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils**. In: Alloway. B.J., Ed., **Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and Their Bioavailability, Environmental Pollution**, Springer, Dordrecht,v.22 p.11-50, 2012.

BATTINI, F.; GRONLUND, M.; AGNOLUCCI, M.; GIOVANNETTI, M.; JAKOBSEN, I. Facilitation of phosphorus uptake in maize plants by mycorrhizosphere bacteria. **Scientific Reports**, 2017

BASSINELLO, P.; LUZ, T. C. L. A.; FERREIRA, C. M. **Farinha de Arroz: Alternativa Alimentar e Econômica**. Documentos, n. 315, 28p, 2017.

BEGON, M. **Ecology: from individuals to ecosystems**. 4 th ed. Malden, MA: Blackwell Pub, 2006.

BENAVIDES, M. P.; GALLEGO, S. M.; TOMARO, M. L. Cadmium toxicity in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, vol 17, n.1, p. 21-34, 2005.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. III - Fungos Micorrízicos Arbusculares. In: FERNANDES, M. S.; SOUSA, S. R.; SANTOS, L. A. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: SBCS, 432p., 2006.

BORNO, M. L.; MÜLLER-STÖVER, D. S.; LIU, F. Contrasting effects of biochar on phosphorus dynamics and bioavailability in different soil types. **Science of the Total Environment**, v. 627, p963-974, 2018.

BI, D.; YUAN, G.; WEI, J.; XIAO, L.; FENG, L.; MENG, F.; WANG, J. A soluble humic substance for the simultaneous removal of cadmium and arsenic from contaminated soils. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, 2019

BRONDANI, G.; VEY, I. H.; MADRUGA, S. R.; TRINDADE, L. L.; VENTURINI, J. C. DIFERENCIAIS DE CUSTOS EM CULTURAS DE ARROZ: A EXPERIÊNCIA DO RIO GRANDE DO SUL. **Revista Universo Contábil**, v. 2, n. 1, p. 61-74, 2006.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Compêndio de Estudos Conab**. –v. 1 30 p. Brasília, 2016

CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A.L.; FAÇANHA, A. R.; Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, p.1951-1957, 2002

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento **Acompanhamento. safra brasileira de grãos**, Safra 2020/21, v.8, n. 4 – 6º levantamento, p. 1-85, 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-graos>.



CRUSCIOL, C. A. C.; MACHADO, J. R.; ARF, O.; RODRIGUES, R. A. F. Produtividade do arroz irrigado por aspersão em função do espaçamento e da densidade de semeadura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 1093-1100, 2000

DOMINGUES, T. C. D. G. **Teor de metais pesados em solo contaminado com resíduo de sucata metálica em função de sua acidificação**. 2009. Dissertação (Mestrado em Gestão de Recursos Agroambientais), Instituto Agrônomo de Campinas, São Paulo.

EMBRAPA Arroz e Feijão. **BRS Esmeralda: Cultivar de Arroz de Terras Altas com Elevada Produtividade e Maior Tolerância à Seca**. Comunicado Técnico, 215. Santo Antônio de Goiás, 2014.

FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O.; OLIVARES F. L.; GURIDI, F.; SANTOS, G. D. A.; VELLOSI, A. C.X.; RUMJANEK, V. M.; BRASIL, F.; SCHRIPEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; DE OLIVEIRA, M. A.; CANELLAS, L. P. Biotividade de ácidos húmicos: Efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 37, n. 9, p.1301-1310, 2002

FAO- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. FAOSTAT database: RICE PRODUCTION IN THE ASIA-PACIFIC REGION: ISSUES AND PERSPECTIVES. Disponível em: <http://www.fao.org/3/X6905E/x6905e04.htm#TopOfPage>. Acesso em 24 de jan. 2021.

FAGERIA, N. K.; BARBOSA FILHO, M. P. **Identificação e correção de deficiências nutricionais na cultura do arroz**. Embrapa Arroz e Feijão-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/214588>

FRANK, B. On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with belowground fungi ( an english translation of AB Frank's classic paper of 1885) **Mycorrhiza**, Berlin, v.15, n.4, p267-275, 2005.

FONTAINE, J.; DEWAILLY, E.; BENEDETTI, J-L.; PEREG, D.; AYOTTE, P.; DÉRY, S. Re-evaluation of blood Mercury, lead and cádmium concentrations in the inuit population of Nunavik (Québec): a cross-sectional study. **Environmental Health**, 2008.

FU, X.; DOU, C.; CHEN, Y.; CHEN, X.; SHI, J.; YU, M.; XU, J. Subcellular distribution and chemical forms of cádmium in *Phytolacca americana* L. **Journal of Hazardous Materials**. v186, p. 103-107, 2011.

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

GRANT, C. A.; FLATEN, D. N.; TOMASIEWICZ, D. J.; SHEPPARD, S. C. A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta: **encarte de informações agrônômicas**. Piracicaba n. 95. Potafos, 2001

GUIMARÃES, C. M. et al. Sistemas de Cultivo. In: SANTOS, A.B.; VIEIRA, N. R. A. **A cultura do arroz no Brasil**- 2 ed. Ver Ampl. –Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 1000 p.

HALEY, J. L.; SMITH, S. E. **Mycorrhizal Symbiosis**. London; New York: Academic Press, 1983. 483 p.

HEPPER, C. M. Nutritional and biochemical studies of the fungi involved in vesicular-arbuscular mycorrhiza. Thesis (Ph.D)- University of London, London. 252 p., 1979.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. The Anthroposphere. In:(org). **Trace Elements in Soils and Plants**. 3rd ed., London: CRC Press, 2000. 403p. Disponível em: <http://base.dnsgb.com.ua/files/book/Agriculture/Soil/Trace-Elements-in-Soils-and-Plants.pdf>

KEMERICH, P. D.C; FLORES, C. E. B.; BORBA, W. F.; FLORES, B. A.; DESCOVI FILHO, L. L. V.; BARROS, G.; GERHARDT, A. E.; RODRIGUES, A. C. Variação das concentrações de cádmio e manganês em solo ocupado por aterro sanitário. **REGET**, v17, n.17, p.3336-3345, 2013.

KNOX, A. S.; KAPLAN, D. I.; PALLER, M. H. Phosphate sources and their suitability for remediation of contaminated soils. **Science of The Total Environment**, v. 357, n. 1-3, p. 271-279, 2006.

KOSKE, R. E. Multiple germination of sinal transduction intracelular symbiosis. **Transactions of the British Mycological Society**, v.7, 1981

KONONOVA, M. M. **Matéria orgânica del suelo: su naturaliza, propiedades y métodos de investigación**. Barcelona, Oikos-Tou. 365p., 1982

LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C. Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A. de; CARDOSO, E. J. B. N & TSAI, S.M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. 716p, p.119-152.

LAPERRE, J. et al. Combining metabolomics and gene expression. Analysis reveals that propionyl- and butyryl- Carnitines are involved in late stages of arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Molecular Pant**, v.7, p. 554-566.

LIU, W. Do genetically modified plants impacts arbuscular mycorrhizal fungi? **Ecotoxicology**, v.19, n.2, p.229-238, 2010.

MAGALHÃES JÚNIOR, A. M.; **Recursos genéticos de arroz (*Oryza sativa* L.) no sul do Brasil**. 2007. Tese (Doutorado em Agronomia)- Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.

MENG, F.; YUAN, G.; WEI, J.; BI, D.; WANG, H. Leornadite-derived humic substances are great adsorbents for cádmium. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 23006-23014, 2017.

McBRIDE, M. B. Environmental chemistry of soils. New York: Oxford University Press, 406p, 1994.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. 2 ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006

NAGASHI, G. DOUDS, D. D. Rapid and sensitive bioassay to study signals between root exudates and arbuscular mycorrhizal fungi. **Biotechnology Techniques**, v.13, p.893-897, 1999.

NAGASHI, G.; DOUDS, D.D. Partial separation of root exudate components and their effects upon the growth of germinated spores of AM fungi, *Mycological Research* v.104, p. 1453-1464, 2000.

NORDBERG G. F; NOGAWA, K. NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. Cadmium. In: **Handbook on the Toxicology of Metals**. 3rd ed. San Diego: Elsevier, 2007. 234 p, p.445-486.

ODEN, S. The humic acids, studies in their chemistry, physics and soil Science. **Kolloidchemie Beih**, v.11, n.2, p. 75-260, 1919.

PÁL M.; HORVÁTH, E.; JANDA, T; PÁLDI E.; SZALAI, G. Physiological changes and defense mechanisms induced by cadmium stress in maize. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 169, n. 2, p. 239-246, 2006.

PAN, J.; PLANT, J. A.; VOULVOULIS, N., OATES, C. J.; IHLENFELD, C. Cadmium levels in Europe: implications for human health. **Environmental geochemistry and health**, v. 32, n. 1, p.1-12, 2010.

PAIS, I.; JONES JUNIOR, J.B. The handbook of trace elements. Boca Raton: St Lucie Press, 223p., 2000.

PEREIRA, J. A.; DE MORAIS, O. P. **As variedades de arroz vermelho brasileiras**. Embrapa Meio- Norte, 38 p ( Documento 229), 2014.

PICCOLO, A. The Supramolecular Structure of Humic Substances: A Novel Understanding of Humus Chemistry and Implications. **Soil Science Adv. Agronomy**, v.75, p. 57-134, 2002.

PINTO, T. O. **Potencialidades do vermicomposto, de seu resíduo sólido (da extração de substâncias húmicas), do biochar, de humina para uso na remediação de solo contaminado com cádmio**. 2016. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

PURIN, S.; RILLING, M.C. Immuno-cytolocalization of glomalin in the mycelium of arbuscular micorrhiza fungus *Glomus intraradices*. **Soil Biology and Biochemistry**, v.40, p 1000-1003, 2008

READ, D. J.; PEREZ-MORENO, J. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems-a journey towards relevance? **New Phytologist**, v.157, n.3, p.475-492, 2003.

REDECKER, D.; MORTON, J.B.; & BRUNS, T. D. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v.14, n.2, p.276-284, 2000.

RESENDE, M.; CURI, N.; KER, J. C.; REZENDE, S. B. de. **Mineralogia dos Solos Brasileiros: interpretação e aplicações**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005.

RICARDO, T. R. **Viabilidade econômica e risco das principais culturas anuais no Município de Rio Verde**. 2010. (Mestrado em Agronegócio) Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2010.

ROCHA, L. D. **Ácido húmico extraído de lodo de esgoto sanitário e seus efeitos em plantas**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória/ ES, 2014.

RODDA, M. R. C.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R.; ZANDONADI, D. B.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L; SANTOS, G. A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humato de vermicomposto. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v.30, p.657-664, 2006.

ROSA, C. M.; CASTILHOS, R. M. V.; VAHL, L. C.; CASTILHOS, D. D.; PINTO, L. F.S.; OLIVEIRA, E. S.; LEAL, O. A. Efeito de substâncias húmicas na cinética de absorção de potássio, no crescimento de plantas e concentração de nutrientes em *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 33, p. 959-967, 2009.

SANCHEZ, P. A.; SALINAS, J.G. Low input technology for managing Oxisols and Ultisols in tropical America. **Advances in Agronomy**, New York, v.334, p.280-406, 1981.

SANTOS, L. L.; LACERDA, J.J.J; ZINN, Y. L. Partição de substâncias húmicas em solos brasileiros. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v. 37, p.955-968, 2013.

SAUEIA, C. H. R. **Distribuição Elementar e de Radionuclídeos na Produção e Uso de Fertilizantes Fosfatados no Brasil**. 2006. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear-Aplicações) IPEN Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/85/85131/tde-22032012-173112/pt-br.php>

SELOSSE, M.-A.; RICHARD, F.; HE, X.; SIMARD, S. W. Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 11, p. 621–628, 2006.

SILVA, F. N.; CHANG, A., FURTINE-NETO, A.; MAIA, S. S. S. Aplicação do modelo de balanço de massa para simulações dos teores de elementos-traço em solo do cerrado. **Revista Caatinga**, v.23, p.93-101, 2010

SYLVIA, D.M.; JARSTFER, A.G. Production of inoculum and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. In Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry (A.D. Robson & N. Malajczuk, eds.). Academic Publishers, Dordrecht, p.231-238, 1994

SMITH, S. E. & SMITH, F. A. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. **Mycologia**, v.104, n.1, p.1-13, 2012.

SMITH, S.E.; READ, D.J. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd Edition, Academic Press, London, 1997.

STOFFEL, S. C. G. **Inoculate micorrízico à base de *Rhizophagus intraradices* no crescimento e nutrição de culturas de importância agrícola**, 2019. 114 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)- Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.

STÜMER, S. L. & SIQUEIRA, J. O. Fungos micorrízicos. In: MOREIRA, F. M. S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R. & STÜRMER, S. L. **Ecossistema Solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal**. UFLA, Lavras, p.291-310, 2013.

STVENSON, J. F. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. Ed. 2. New York: John Wiley e Sons INC., p. 496, 1994.

SOUZA, W. B.; SANTAN, G. P. Substâncias húmicas: Importância, estruturas químicas e interação com mercúrio. **Scientia Amazonia**, v.3, n.3, p. 80-88, 2014.

SOUZA, F. A.; et al. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares e sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A de; CARDOSO, E. J. B. N & TSAI, S.M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010. 716 p., p.15-73.

TAKEDA, S.H. K. **Exposição da população adulta da RMSP a contaminantes ambientais: associação entre o conteúdo corpóreo de metais e fatores de riscos**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Universidade de São Paulo, São Paulo.

VALADARES, R. B.S.; MESCOLOTTI, D. L. C.; CARDOSO, E. J. B. N. **Micorrizas**. In: CARDOSO, E. J. B.N.; ANDREOTTI, F. D. Microbiologia do solo. 2ª ed. 221 p., Piracicaba, SP, 2016

WANDER, A. E.; DA SILVA, O. F. **Rentabilidade da produção de arroz no Brasil**. Embrapa Arroz e Feijão (ALICE), 2014. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1016409>

ZENTENO, M. D. C **Condicionadores minerais e orgânicos na imobilização de cádmio em solos**, 2012. 77 f. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)- Universidade Federal de Viçosa, 2012.

## **4 CAPÍTULO I**

### **EFEITO DO CÁDMIO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE ARROZ**

#### 4.1 RESUMO

O cádmio é um metal pesado que não desempenha função no organismo, é inserido no ecossistema principalmente por ações antrópicas e seu consumo causa sérios riscos à saúde humana. Sua presença no meio ambiente afeta o funcionamento da cadeia alimentar em níveis residuais, devido sua alta toxicidade e persistência. O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais consumido, e possui alta capacidade de absorção de  $\text{Cd}^{+2}$  em seus tecidos, portanto, é considerado o cereal que mais incorpora metal pesado na dieta humana. A contaminação de  $\text{Cd}^{+2}$  na agricultura causa danos ao desenvolvimento vegetal, devido à inativação enzimática, além de competir com elementos essenciais, dificultando a absorção de nutrientes pela planta. Por esta razão, no presente estudo foram utilizadas plantas de arroz cv. BRS Esmeralda, com objetivo de determinar a concentração máxima de  $\text{Cd}^{+2}$  tolerável pela planta. Para tal, foram testadas diferentes concentrações de  $\text{Cd}^{+2}$  (0; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 mM), buscando comparar seus efeitos no desenvolvimento vegetal através da avaliação de biomassa, da morfologia radicular e, rendimento fotossintético. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e dez repetições. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, as plantas foram cultivadas em vasos contendo substrato de areia lavada e autoclavada, os tratamentos foram adicionados nas unidades experimentais através de solução nutritiva a cada três dias. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística de regressão para determinação da dose máxima tolerável. Este estudo demonstra que doses crescentes de  $\text{Cd}^{+2}$  apresentaram tendência de redução da matéria fresca e seca da parte aérea e radicular. As concentrações de 0,05 mM e 0,1 mM afetaram negativamente a produção de biomassa, o mesmo foi observado na maioria dos parâmetros radiculares estudados, em que as maiores concentrações afetaram diversos parâmetros da arquitetura radicular. Não houve alteração nas variáveis da fluorescência transiente da clorofila a nos tratamentos estudados, podendo ser devido ao curto período de exposição ao metal pesado. Na condição experimental estudada, a concentração de 0,025 mM torna-se a máxima tolerável por plantas de arroz cv. BRS Esmeralda.

## 4.2 ABSTRACT

Cadmium is a heavy metal that does not play a role in the organism, it is inserted into the ecosystem mainly by human actions and its consumption causes serious risks to human health. Its presence in the environment affects the functioning of the food chain at residual levels due to its high toxicity and persistence. Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the most consumed cereals, and has a high  $\text{Cd}^{+2}$  absorption capacity in its tissues, therefore, it is considered the cereal that most incorporates heavy metal in the human diet. Contamination of  $\text{Cd}^{+2}$  in agriculture causes damage to plant development, due to enzymatic inactivation, in addition to competing with essential elements, hindering the absorption of nutrients by the plant. For this reason, in the present study rice plants cv. BRS Esmeralda, with the objective of determining the maximum concentration of  $\text{Cd}^{+2}$  tolerable by the plant. To this end, different concentrations of  $\text{Cd}^{+2}$  (0; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 mM) were tested, seeking to compare their effects on plant development through the evaluation of biomass, root morphology and photosynthetic yield. . A completely randomized design was used, composed of five treatments and ten repetitions. The experiment was carried out in a greenhouse, the plants were grown in pots containing washed and autoclaved sand substrate, treatments were added to the experimental units using nutrient solution every three days. The results obtained were subjected to statistical regression analysis to determine the maximum tolerable dose. This study demonstrates that increasing doses of  $\text{Cd}^{+2}$  showed a tendency to reduce the fresh and dry matter of the aerial and root parts. The concentrations of 0,05 mM and 0,1 mM negatively affected the biomass production, the same was observed in most of the studied root parameters, in which the highest concentrations affected several parameters of the root architecture. There was no change in the variables of chlorophyll transient fluorescence in the treatments studied, which may be due to the short period of exposure to heavy metal. In the experimental condition studied, the concentration of 0,025 mM becomes the maximum tolerable for rice plants cv. BRS Emerald.



### 4.3 INTRODUÇÃO

O cádmio ( $\text{Cd}^{+2}$ ) é um metal pesado encontrado no solo, atmosfera e água, considerado elemento mais fitotóxico, devido à alta solubilidade em água e persistência no ecossistema (GORINOVA et al. 2007). Presente em baixas concentrações nos solos pode sofrer alterações em suas concentrações por fatores naturais como atividade vulcânica, erosão de rochas sedimentares e fosfáticas, ou através da ação antrópica (GRANT, 2011).

A crescente busca pelo aumento da produtividade agrícola tem contribuído para adição de tal elemento aos solos, principalmente através do uso intensivo de herbicidas, fertilizantes fosfatados, uso de águas residuais, dentre outras práticas. Embora não seja essencial para o desenvolvimento vegetal, em contato com a planta, o cádmio elemento bivalente compete nos sítios ativos de elementos essenciais, sendo facilmente absorvido. (KIM et al., 2002).

A contaminação por este elemento em solos agrícolas é considerado um problema ambiental e generalizado (GALLEGO et al., 2012), nas lavouras de arroz, a aplicação intensiva de fertilizantes fosfatados, dentre outros insumos agrícolas consistem nas principais fontes antropogênicas de poluição de Cd (DU et al., 2012). Considerado alimento base da dieta de diversas culturas, o arroz é um cereal que tem capacidade de absorver prontamente o  $\text{Cd}^{+2}$  disponível no solo e ser transportado até os grãos (AZIZ et al., 2015; KOSOLSAKSAKUL et al., 2014; URAGUCHI et al., 2009). No entanto a capacidade de acumulação do metal pesado varia de acordo com a cultivar de arroz (TANG et al., 2015; YU et al., 2006)

Na planta a fitotoxicidade do cádmio é observada na redução do crescimento, no desenvolvimento, fisiologia e nutrição mineral (XANG et., 1996), tendo o principal efeito na inibição da fotossíntese. Tal fato pode ser atribuído a ação direta na síntese de clorofila, na organização dos cloroplastos, no transporte de elétrons e na atividade enzimática (CHUGH & SAWHNEY, 1999; STORBAT et al., 1985), ou na ação indireta do metal na abertura estomática, disponibilidade de  $\text{CO}_2$  e na absorção de água (BARYLA et al., 2001; COSTA et al., 1994)

Diante do exposto, fica evidente a necessidade de estudos sobre os efeitos da presença do cádmio na rizocultura, a fim de averiguar o seu comportamento em diferentes cultivares da cultura. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes concentrações de Cd em plantas de arroz cv. BRS Esmeralda, no desenvolvimento vegetal, parâmetros radiculares e no rendimento fotossintético, com intuito de determinar a concentração máxima tolerável pelas plantas de arroz.

## 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.4.1 Material vegetal e condições gerais de experimentação

O experimento de dose máxima de  $\text{Cd}^{+2}$  tolerável em arroz foi conduzido durante 20 dias em casa de vegetação, no Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica, RJ. Foram utilizadas sementes de arroz var. BRS Esmeralda, estas foram previamente lavadas com *tween*, desinfestadas com hipoclorito de sódio (2%) por 10 minutos e posteriormente lavadas com água destilada. Após a desinfestação as sementes foram postas para germinar sob gaze em potes que continham água destilada. Quatro dias após a germinação, as plântulas foram colocadas em solução de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) modificada a 1/4 de força iônica. Após três dias foi trocada a solução para 1/2 força iônica, em seguida feita a seleção das plântulas mais vigorosas e homogêneas para serem transplantadas em potes contendo areia lavada e autoclavada.

Para estudar o efeito das diferentes concentrações de  $\text{Cd}^{+2}$  e determinar a dose máxima tolerável em arroz cv. BRS Esmeralda, foi preparada solução de Hoagland modificada a 1/2 de força iônica e adicionado os tratamentos utilizando  $\text{CdCl}_2$  como fonte de cádmio, sendo trocada a cada três dias.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), composto por quatro plântulas de arroz por pote (unidade experimental), tendo para cada tratamento (0 ; 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 mM  $\text{Cd}^{+2}$ ) dez repetições, totalizando 50 unidades experimentais. As análises estatísticas de regressão foram realizadas no programa R, versão 1.7.1.

### 4.4.2 Avaliação da cinética de emissão de fluorescência transiente da clorofila a (O-J-I-P)

Aos vinte dias após o transplântio foi medida a fluorescência transiente da clorofila a pela manhã antes das primeiras horas de luminosidade, utilizando um fluorômetro portátil (HandyPEA, Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). Seguindo a recomendação do fabricante, os clips foram colocados no terço médio da folha mais nova expandida em dez repetições de cada tratamento durante vinte minutos para adaptação ao escuro total. A emissão de fluorescência é induzida em uma área de 4 mm de diâmetro da folha pela exposição de pulsos de luz saturante numa intensidade de  $3.000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sendo o intervalo entre os pulsos de 500 ms. A partir da curva de emissão da fluorescência transiente obtida, as intensidades determinadas a 50  $\mu\text{s}$  (fluorescência inicial- F0), 100, 300 $\mu\text{s}$ , 2 (FJ) e 30 (FI) ms e FM (fluorescência máxima), foram utilizadas para o cálculo dos parâmetros e estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER & STRASSER, 1995) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Principais parâmetros do Teste JIP (Adaptada de: STRASSER et al., 2004 & YUSUF et al., 2010).

<b>Parâmetros de fluorescência calculados a partir dos dados primários obtidos</b>	
$F_V = F_M - F_0$	Fluorescência variável
$F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo do FSII
$V_t$	Fluorescência variável relativa em um tempo “t”
$V_j$	Fluorescência variável relativa em relação ao nível J
$V_i$	Fluorescência variável relativa em relação ao nível I
$M_0 = 4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$	Declive inicial aproximado (em $ms^{-1}$ ) da fluorescência transiente $V = f(t)$
$S_s = V_j/M_0$	Área total normalizada complementar correspondente apenas a fase OJ (reflete um único volume de eventos de redução de QA)
$S_m = (Area)/(F_M - F_0)$	Área total normalizada complementar acima da curva OJIP (reflete múltiplos eventos de redução QA)
$N = S_m/S_s$	Número total de elétrons transferidos para a cadeia de transporte de elétrons entre o tempo de 0 e t (necessário para atingir FM)
<b>Atividade específica por centro de reação (RC)</b>	
$ABS/RC = M_0(1/V_j) (1/\phi P_0)$	Medida do tamanho aparente do sistema antena ou o fluxo de absorção por RC
$TR_0/RC = M_0 (1/V_j)$	Máxima taxa pela qual um éxciton é capturado pelo RC resultando em uma redução da plastoquinona (QA <sup>-</sup> )
$ET_0/RC = M_0 (1/V_j) \Psi_0$	Reoxidação da QA <sup>-</sup> via transporte de elétrons em um RC ativo
$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	Razão de dissipação total de energia de excitação não capturada do total de RC, sendo a dissipação neste caso à perda de energia na forma de calor
$RE_0/RC$	Redução do acceptor final de elétrons no lado do acceptor de elétrons do FSI por RC
<b>Rendimentos energéticos ou taxas de fluxo</b>	
$\phi P_0 = TR_0/ABS = F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo fotoquímico
$\phi E_0 = ET_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de QA <sup>-</sup> para o intersistema de aceptores de elétrons
$\phi D_0 = 1 - \phi P_0 = (F_0/F_M)$	Rendimento quântico para dissipação de energia
$\phi R_0 = RE_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de QA <sup>-</sup> para o acceptor final de elétrons do FSI
<b>Eficiências</b>	
$\psi_0 = ET_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron de QA <sup>-</sup> para o intersistema de aceptores de elétrons
$\rho_0 = RE_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de QA <sup>-</sup> para os aceptores finais de elétrons do FSI
$\delta_0 = RE_0/ET_0$	Eficiência com que um elétron pode mover o intersistema de aceptores de elétrons reduzidos no intersistema para o acceptor final de elétrons do FSI
<b>Índices de desempenho</b>	
$PI_{ABS} = \frac{RC}{ABS} \times \left(\frac{\phi P_0}{1 - \phi P_0}\right) \times \left(\frac{\psi_0}{1 - \psi_0}\right) = \frac{RC}{ABS} \times \frac{TR_0}{DI_0} \times \frac{ET_0}{1 - ET_0}$	Índice de desempenho fotossintético (conservação de energia a partir do éxciton para a redução dos aceptores de elétrons do intersistema). Índice de desempenho fotossintético total (conservação de energia a partir de éxciton para a redução de aceptores finais do FSI).
$PI_{ABStotal} = PI_{ABS} \times \left(\frac{\delta_0}{1 - \delta_0}\right)$	

#### **4.4.3 Parâmetros morfológicos radiculares**

Para avaliação do sistema radicular de cada tratamento, foram coletadas as raízes e lavadas com água destilada, individualmente foram colocadas em cuba acrílica de 20 cm de largura por 30 cm de comprimento, contendo aproximadamente 2 mm de lâmina de água para diminuir o efeito de sobreposição de imagem durante a digitalização das mesmas. As raízes foram digitalizadas em scanner profissional Epson Expression 10000 XL, equipado com luz adicional (TPU) com resolução de 600 dpi (pontos por polegada) e salvas no formato TIF. As imagens capturadas foram analisadas com auxílio do programa WinRhIZO (Reagent Instruments Inc., Quebec, Canadá), os dados salvos em documento de notas, seguidamente convertido ao Excel para análises dos dados. Foram analisados e quantificados 18 diferentes características morfológicas de raízes: comprimento (mm), área (mm<sup>2</sup>), diâmetro médio (mm), volume (mm<sup>3</sup>), total de raízes, número de bifurcações. Dentro dos parâmetros de comprimento, área, volume e número de raiz, foram separados em classes de raízes superfina (0,5 < d < 1,5 mm), fina (1,5 < d < 3,5 mm) e grossas (d > 3,5 mm).

#### **4.4.4 Avaliação da produção de biomassa**

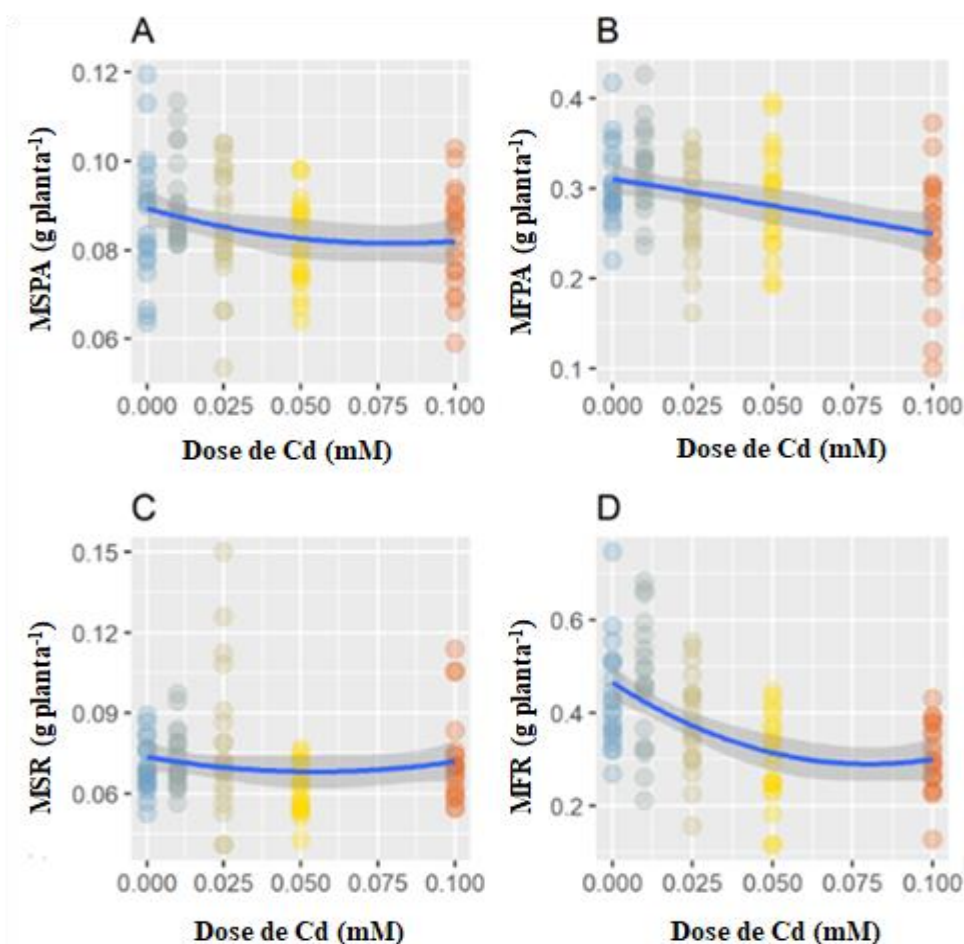
O material coletado foi separado em parte radicular e aérea, em seguida pesado em balança analítica para determinação da matéria fresca da raiz (MFR) e matéria fresca da parte aérea (MFPA). Posterior à pesagem do material fresco, foi mantido em estufa de circulação forçada de ar (50 ± 5 °C) até atingir a massa constante. Para a determinação da matéria seca, o material foi novamente pesado e separado em matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca da parte aérea (MSPA).

## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.5.1 Efeito das diferentes concentrações de $\text{Cd}^{+2}$ no desenvolvimento vegetal e na arquitetura radicular.

Para verificar o desenvolvimento inicial de plantas de arroz cv. BRS Esmeralda em contato durante 15 dias com  $\text{Cd}^{+2}$ , foram analisadas a produção de biomassa e as alterações na arquitetura radicular. As plantas de arroz apresentaram um modelo vegetal satisfatório para o estudo da toxicidade por  $\text{Cd}^{+2}$ .

Concentrações crescentes de  $\text{Cd}^{+2}$  resultaram na diminuição da produção de matéria fresca e seca (Figura 3), efeito semelhante foi observado na morfologia radicular (Figura 4).



**Figura 3.** Produção de biomassa em arroz cv. BRS Esmeralda sob diferentes níveis de  $\text{Cd}^{+2}$ . MFPA (matéria fresca da parte aérea), MSPA (matéria seca da parte aérea), MSR (matéria seca da raiz), MFR (matéria fresca da raiz).

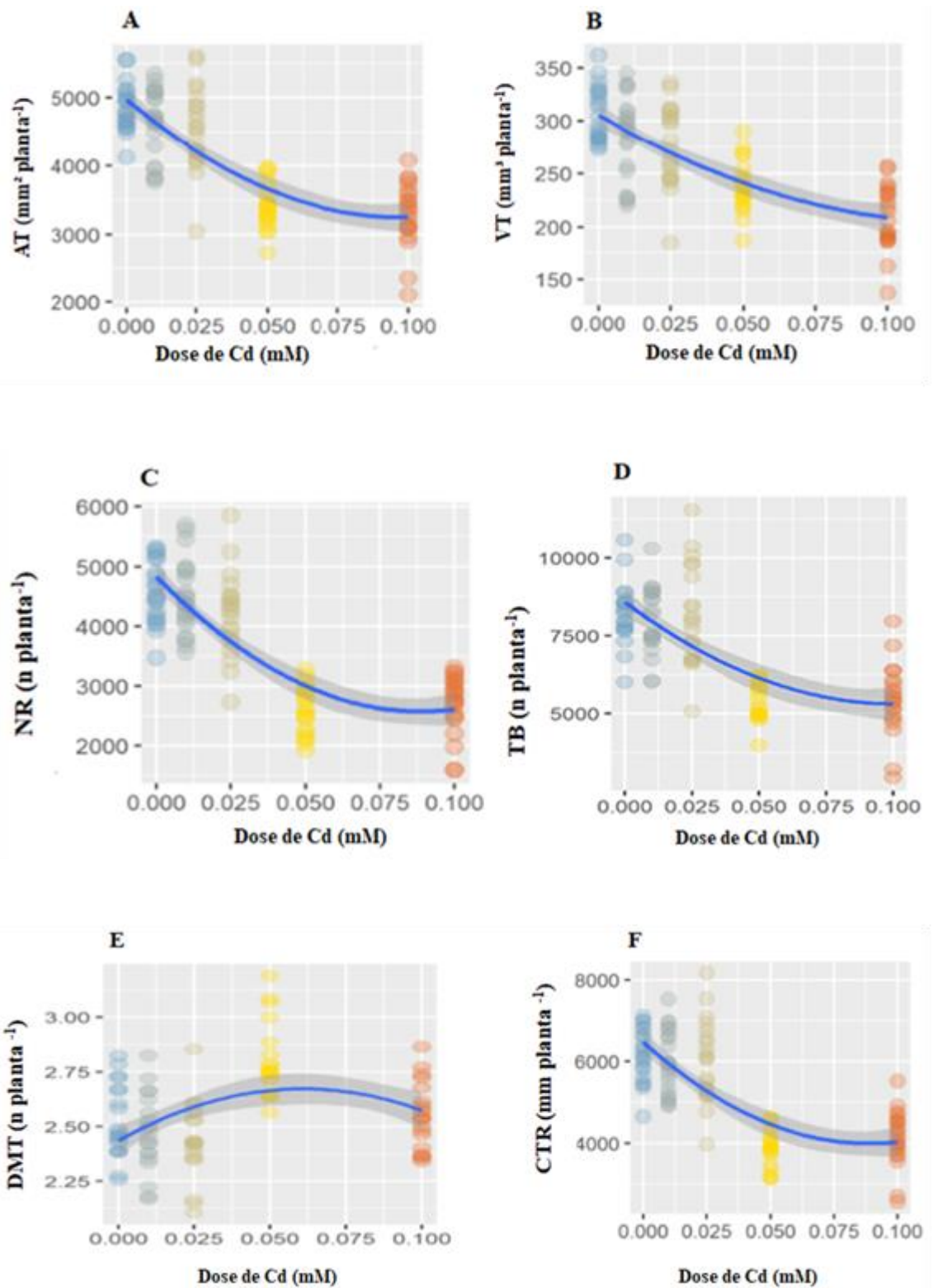
O desenvolvimento da parte aérea foi afetado negativamente na presença de solução nutritiva com  $\text{Cd}^{+2}$ , a MFPA e MSPA apresentaram maior redução e/ou inibição em seu

desenvolvimento nos tratamentos 0,05 e 0,1 mM Cd<sup>+2</sup>, assim como MFR em que apresentou comportamento quadrático com redução em todos tratamentos na presença do metal pesado.

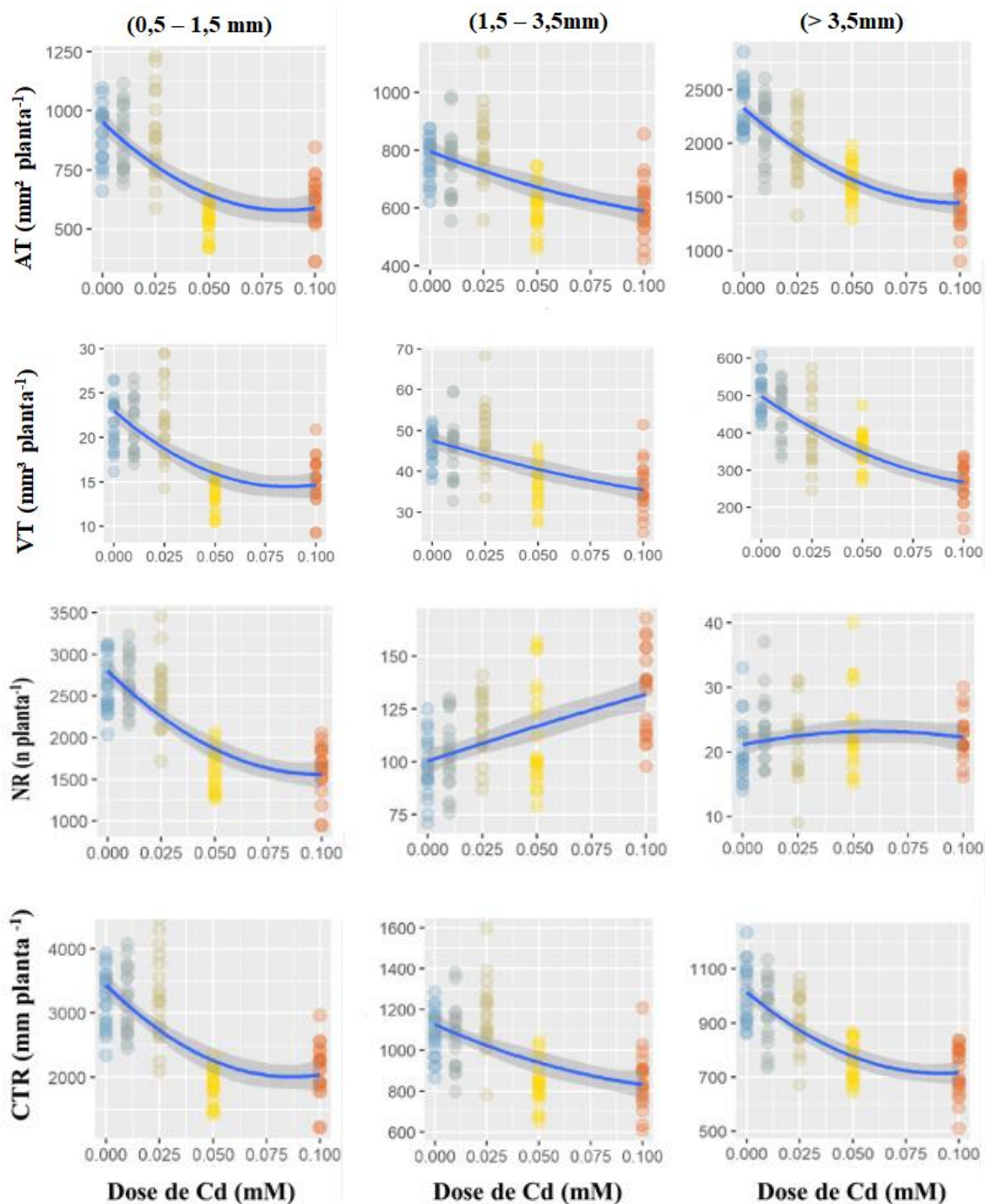
O efeito tóxico do Cd<sup>+2</sup> foi evidenciado em diversas culturas, com redução no crescimento da parte aérea, mesmo em espécies consideradas resistentes ao metal pesado. Relatos em espécies como *Gossypium hirsutum* L. (DAUD et al.,2013), *Eucalyptus maculata* (SOARES et al.,2005), *Cucumis sativus* L.(FENG et al., 2010) reforçam a ação do elemento na inibição no desenvolvimento vegetal. Nas plantas, os sintomas iniciais dos processos fisiológicos influenciados pelas elevadas concentrações do metal pesado consiste na inibição do crescimento radicular e da parte aérea (BOUSSANA et al., 1999), tal fenômeno foi evidenciado no presente estudo, pois Cd causa distúrbios no transporte de água e de elementos essenciais à planta

Quanto a MSR, o tratamento com 0,05 mM Cd<sup>+2</sup> ocasionou a menor produção de matéria seca, tendo o tratamento com adição de 0,1 mM a produção similar ao controle. Tal situação pode ser explicada pelo fato do Cd<sup>+2</sup> afetar o controle osmótico celular e consequentemente reduzir a incorporação de água no tegumento, por isso doses maiores de Cd<sup>+2</sup> reduziu a MFR e MFPA, porém houve sutil estímulo da MSR na concentração mais elevada, o que pode ser explicado como estratégia de defesa utilizada pela planta ao desenvolver seu sistema radicular e/ou aumentar a produção de fibras celulares com intuito de aumentar a tolerância ao metal pesado e absorção de nutrientes.

Segundo Wagner (1993), o aumento das concentrações de Cádmio nas plantas diminui na seguinte ordem os órgãos: raízes; folhas; grãos. Diante desta afirmativa, os parâmetros radiculares analisados (Figura 4, Figura 5), tornam-se importantes na observação de alterações da arquitetura radicular em diferentes concentrações do metal pesado, ajudando compreender o comportamento do sistema radicular sob estresse abiótico.



**Figura 4.** Efeito de diferentes concentrações de Cd<sup>2+</sup> na morfologia radicular de plantas de arroz cv. BRS Esmeralda. (A) área total; (B) volume total; (C) número de raízes; (D) total de bifurcações; (E) diâmetro médio total; (F) comprimento total da raiz.



**Figura 5.** Efeito de diferentes concentrações de Cd+2 nas classes de morfologia radicular, classificadas em superfina (0,5-1,5 mm), finas (1,5-3,5 mm) e grossas (>3,5mm). Área total (AT), volume total (VT), número de raízes (NR), comprimento total de raiz (CTR).

O sistema radicular do arroz é formado principalmente por raízes adventícias, as raízes mais grossas tendem a crescer em profundidade e as mais finas superficialmente. As raízes do sistema inundado são mais finas e fibrosas, enquanto que raízes do sistema sequeiro são alongadas e mais grossas podendo atingir até 140 cm de profundidade (YOSHIDA & HASEGAWA, 1982).



A morfologia e a distribuição das raízes são importantes na absorção de nutrientes presentes na solução do solo com menor disponibilidade à planta, sua demanda pode limitar a produtividade de grão na lavoura. Nas proximidades das raízes é formada a região de depleção, onde os nutrientes são absorvidos em quantidade superiores à reposição do solo. A área superficial da raiz é proporcional à taxa de difusão, além disto uma maior dimensão das raízes na exploração do solo diminui a distância de transporte do nutriente, conseqüentemente aumenta a taxa de difusão (BARBER, 1984)

Os resultados demonstraram que a adição de  $Cd^{+2}$  provocou redução na maioria dos parâmetros radiculares, como bifurcações, volume, área e raízes laterais. As concentrações maiores (0,05 e 0,1 mM) tiveram as reduções mais evidentes, nestas concentrações houve o aumento do diâmetro médio radicular e dentre as raízes totais, as raízes finas (1,5-3,5 mm) tiveram maior quantificação.

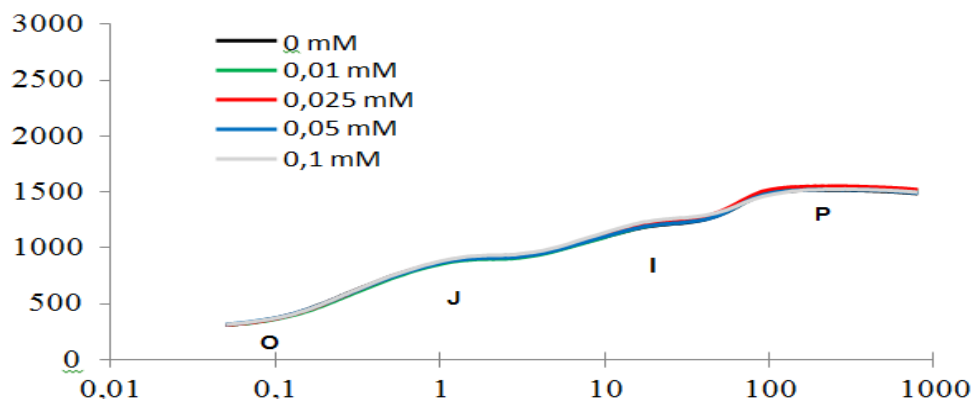
Foi evidenciado no presente trabalho que o metal pesado reduziu grande parte dos parâmetros analisados, sendo a região radicular a mais impactada. As plantas durante o desenvolvimento inicial são altamente suscetíveis ao Cd, devido a fácil absorção do elemento pelas raízes.

A redução no desenvolvimento radicular é um dos primeiros sintomas de estresse por cádmio, devido o órgão ser o primeiro em contato com o metal pesado. A redução no crescimento radicular pode estar ligada à perda da viabilidade celular. De forma similar, diversas espécies sob estresse por Cd apresentaram forte correlação entre inibição do crescimento radicular e indução da morte celular (DE MICHELE et al., 2009). Outro sintoma observado no presente estudo, constatou o aumento do diâmetro médio das raízes, indicando o estresse pelo metal pesado principalmente na concentração de 0,05 mM, comprovando os efeitos prejudiciais do  $Cd^{+2}$  em plantas de arroz, descrito em literatura como mecanismo de defesa em planta em condições de estresse por metal pesado (LUX et al., 2011).

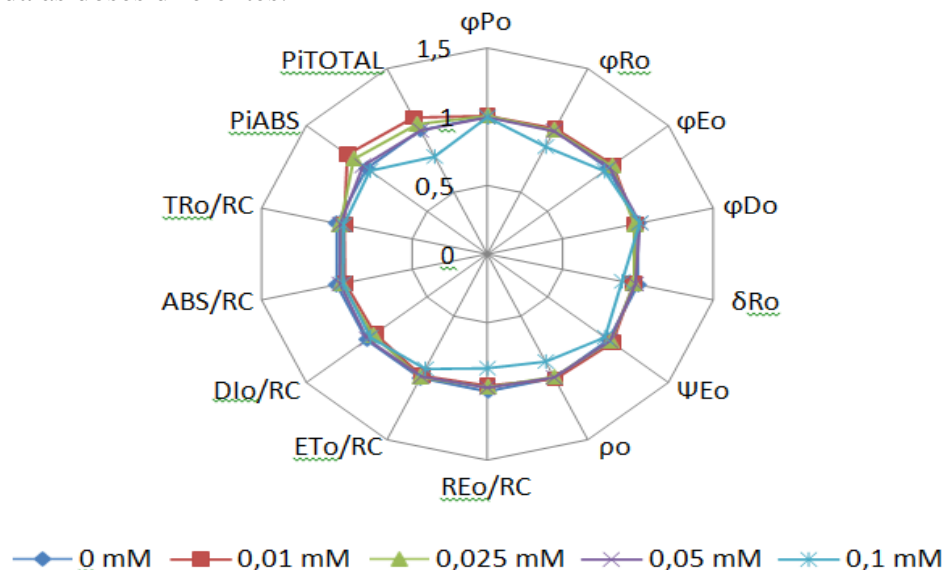
O engrossamento da raiz é decorrente do aumento da rigidez provocada pela produção de lignina e diferenciação acelerada das raízes. O diâmetro da raiz impacta a capacidade de absorção de nutrientes, raízes mais finas são geralmente mais novas, apresentam mais rapidez na absorção de nutrientes devido ao menor trajeto até o xilema.

#### 4.5.2 Efeito na fluorescência transiente da clorofila a

A curva OJIP e valores de intensidade de fluorescência nos pontos O-J-I-P em *Oryza sativa* L. var BRS Esmeralda (Figura 6, Tabela 1), demonstraram que na curva OJIP os tratamentos com doses  $Cd^{+2}$  não apresentaram diferença estatística significativa.



**Figura 6.** Intensidade de fluorescência da clorofila a obtida da espécie vegetal submetida às doses diferentes.



**Figura 7.** Parâmetros do Teste JIP obtidos da (espécie vegetal) submetida a diferentes doses de metal, expresso em relação aos valores do tratamento controle (valor transformado para 1).

**Tabela 2.** Intensidades de fluorescência da clorofila a nos passos O (Fo), J (FJ), I (FI) e P (FM) obtidas da (espécie vegetal) submetida as doses de metais.

Cádmio	PHI (Po)	ABS/RC	TRo/RC	ETo/RC	Dio/RC	REo/RC	Piabs	Pitotal
Controle	0,80 a	2,56 <sup>NS</sup>	2,04 <sup>NS</sup>	1,02 a	0,53 <sup>NS</sup>	0,50 a	1,55 <sup>NS</sup>	1,49 <sup>NS</sup>
0,01 mM	0,80 a	2,42	1,93	1,00 ab	0,49	0,48 a	1,78	1,64
0,025 mM	0,80 a	2,47	1,98	1,01 a	0,49	0,48 a	1,72	1,57
0,05 mM	0,79 a	2,51	1,99	1,00 ab	0,52	0,49 a	1,58	1,47
0,1 mM	0,39 b	2,45	1,94	0,94 b	0,51	0,41 b	1,51	1,19
C.V (%)	1,92	5,55	4,91	3,57	8,2	5,57	17,25	19,7

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS = não significativo na ANOVA a 5% de probabilidade.

De modo geral, diversas espécies de plantas em contato com Cd tem sua síntese de cloroplastos reduzida, e conseqüentemente sofre alterações no sistema fotossintético (XUE et al., 2013; YING et al. 2010; LÓPEZ-MILLÁN et al. 2009). Um dos sintomas na parte aérea observado nas plantas contaminadas consiste na clorose e redução do crescimento.

O ensaio conduzido apresentou somente o sintoma de redução do crescimento com o aumento da concentração de Cd presente na solução nutritiva. Verificou através da análise de fluorescência da clorofila a, que não houve alteração entre os tratamentos, indicado que não houve alteração no aparato fotossintético. O curto período de contato com a solução contaminada pode ter sido insuficiente para provocar alterações fotossintéticas.

## 4.6 CONCLUSÃO

Os tratamentos com cádmio afetaram negativamente todos os parâmetros estudados, as maiores concentrações (0,05 e 0,1 mM) influenciaram na redução da produção de matéria fresca e seca da parte aérea e radicular.

O sistema radicular do arroz apresentou redução nos parâmetros morfológicos avaliados, dentre eles o comprimento total, área total, volume total, porém houve o aumento do diâmetro médio total nos tratamentos com maiores concentrações do metal pesado.

Não houve alteração no aparato fotossintético nos tratamentos estudados, podendo ser devido ao curto período de exposição ao metal pesado.

Na condição experimental estudada, a concentração de 0,025 mM torna-se a máxima tolerável por plantas de arroz cv. BRS Esmeralda.

#### 4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBER, S. A. **Soil nutriente bioavailability**. New York: J. Wiley, 384p., 1984.
- BARYLA, A.; CARRIER, P.; FRANCK, F.; COULOMB, C.; SAHUT, C.; HAVAUX, M. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cádmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth, *Planta*, v.212, p. 696-109 (2001).
- BOUSSAMA, N.; QUARITI, O.; GHORBAL, M. H. Changes in growth and nitrogen assimilation in barley seedlings under cádmium stress. **Journal of Plant Nutrition**, v. 22, n4, p.731-752, 1999.
- CHURGH, L. K.; SAWHEY, S.K.; Photosynthetic activities of *Pisium sativum* seedling grown in presence of cádmium, *Plant Physiol Biochemistry*, v.37, p. 297-303, 1999.
- COSTA, G.; MICHAUT, J.C.; MOREL, J.L. Influence of cádmium on water relations and gas exchanges, in phosphorus deficiente *Lupinus albus*. **Plant Physiology Biochemistry**, v.32, p. 105-114, 1994.
- DAUD, M.K.; SAFAQAT, A.; VARIATH, M.T.; ZHU, S.J. Differential physiological, ultramorphological and metabolic responses of cotton cultivars under cádmium stress. **Chemosphere**, v.93, p.2593-2602, 2013
- FENG, J.; SHI, Q.; WANG, X.; WEI, M.; YANG, F.; XU, H. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. **Scientia Horticulturae**. v.123, p.521–530, 2010.
- FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: A Guide for its Bootstrap procedure in multiple comparisons. *Ciênc. agrotec.* [online]. 2014, vol.38, n.2, pp. 109-112.
- GALLEGO, S.M.; PENA, L.B.; BARCIA, R.A.; AZPILICUETA, C.E.; IANNONE, M.F.; ROSALES, E.P.; BENAVIDES, M.P. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. **Environmental and Experimental Botany**, v.83, p. 33-46. 2012.
- GORINOVA, N.; NEDKOVSKA, M.; TODOROVSKA, E.; SIMOVA-STOILOVA, L.; STOYANOVA, Z.; GEORGIEVA, K.; DEMIREVSKA-KEPOVA, K.; ATANASSOV, A.; HERZIG, R.. Improved phytoaccumulation of cadmium by genetically modified tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.). Physiological and biochemical response of the transformants to cadmium toxicity. **Environmental Pollution**, v. 145, p. 161-170, 2007
- GRANT, C.A. Influence of phosphate fertilizer on cadmium in agricultural soil and crops. **Agriculture and Agri-Food Canada**. v.54, p.143-155, 2011.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water- culture method for growing plants without soil. *California Agricultural of Experimental Station Bull*, v.347, p.1- 32, 1950.
- KIM, Y. Y.; YANG, Y. Y.; LEE, Y. Pb and Cd uptake in rice roots. **Physiologia Plantarum**, v.116, p. 368-372, 2002.

LÓPEZ-MILLÁN, A.F.; SAGARDOY, R.; SOLANAS, M.; ABADPIA, A.; ABADÍA, J. Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in hydroponics. **Environmental and Experimental Botany**. v. 65, p. 376-385, 2009.

LUX, A. J et al., Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review. *Journal of Experimental Botany*, vol 61, p. 21-37, 2011

SOARES, C. R. F. S.; SIQUEIRA, J. O.; CARVALHO, J. G.; MOREIRA, F. M. S. Fitotoxicidade de cádmio para *Eucalyptus maculata* e *E. urophylla* em soloção nutritiva. **Revista Árvore**, v.29, n.2, 2005

STOBART, A.K.; GRIFFITHS, W. T.; AMEEN-BUKHARI, I. SHERWOOD, R.. The effect of Cd<sup>+2</sup> on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley, *Physiology Plant*, v.63, p. 293-298, 1985.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou, C., Govindjee, (Eds), *Chlorophyll Fluorescence: A signature of Photosynthesis*. Dordrecht: Springer- Verlag, p. 321-362, 2004.

TANG, H.; LI, T. X.; ZHANG, X. Z.; YU, H. Y., CHEN, G. D. Screening of rice cultivars with high cadmium accumulation and its cadmium accumulation characteristics. **Ecology and Environmental Sciences** v.24, p. 1910-1916, 2015.

URAGUCHI, S.; MORI, S.; KURAMATA, M.; KAWASAKI, A.; ARAO, T.; ISHIKAWA, S. Root to shoot Cd translocation via the xylem is the major process determining shoot and grain cadmium accumulation in rice. **Journal of Experimental Botany**. p. 2677-2688, 2009.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Acid extraction of sediments, sludges, and soils. EPA method 3050. 14p. 2008.

WAGNER, G.J. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv. Agron.* V.51, p. 173-212, 1993.

XUE, X.C.; GAO, H. Y.; ZANG, L. T. Effects of cadmium on growth, photosynthetic rate and chlorophyll content in leaves of soybean seedlings. **Biologia Plantarum**. v. 57, p. 587-590. 2013.

YANG, X.; BALIGAR, V.C.; MARTENS, D. C. CLARK, R.B. Cadmium effects on influx and transport of mineral nutrients in plant species, **Journal Plant Nutricional**, v. 19, p. 634-656, 1996.

YING, R. R.; QIU, R. L.; TANG, Y. T.; HU, P. J.; QIU, H.; CHEN, H. R.; SHI, T. H.; MOREL, J. L. Cadmium tolerance of carbon assimilation enzymes and chloroplast in Zn/ Cd hyperaccumulator *Picris divaricata*. **Journal Plant Physiology**. v. 167, p. 81-87, 2010.

YOSHIDA, S.; HASEGAWA, S. The rice root system: its development and function. In: IRRI. *Drought resistance in crops with emphasis on rice*. Los Baños, p.97-114, 1982

YU, H.; WANG, J. L.; FANG, W.; YUAN, J.; YANG, Z. Y. Cadmium accumulation in diferente rice cultivars and screening for pollution-safe cultivars of rice. **Science of the Total Environment**. v. 370, p. 302-309, 2006.

YUSUF, M.A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE; SARIN, N. B. Overexpression of  $\gamma$ - tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1797, p. 1428-1438, 2010.

## **5 CAPÍTULO II**

### **EFEITO DA SUBSTÂNCIA HÚMICA ISOLADA DE VERMICOMPOSTO NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO ARROZ**

## 5.1 RESUMO

O presente capítulo teve como objetivos: i) Determinar a dose-resposta de SH-Vc em arroz cv. BRS Esmeralda, ii) Avaliar o efeito da SH-Vc no desenvolvimento inicial de plântulas de arroz. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em que plantas de arroz cv. BRS Esmeralda foram cultivadas em vasos contendo como substrato areia lavada e autoclavada. Os nove tratamentos de SH-Vc (0, 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg L<sup>-1</sup>) foram incorporados à solução nutritivas e trocada a cada três dias. Foram realizadas coletas com 72, 96, 120 e 144 horas após o início dos tratamentos. O experimento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) composto por nove concentrações de SH-Vc, quatro horários de coletas e cinco repetições. Foram analisadas os parâmetros de matéria fresca e seca em suas frações (radicular e foliar), e a morfologia radicular foi estudada através dos parâmetros números de raízes, diâmetro médio e volume de raiz. Os resultados obtidos no presente ensaio demonstram que a SH-Vc apresenta resposta positiva no estímulo da produção de biomassa e aos parâmetros radiculares estudados. A resposta da SH-Vc na cultura de arroz é dependente da dosagem empregada ao período de exposição do material, apresentando comportamento quadrático. As concentrações 40 e 60 mg L<sup>-1</sup> de SH-Vc foram mais eficientes na promoção de biomassa e desenvolvimento radicular.

**Palavra-chave:** Bioestimulante, vermicomposto, morfologia radicular.



## 5.2 ABSTRACT

This chapter aimed to: i) Determine the dose-response of SH-Vc in rice cv. BRS Esmeralda, ii) Evaluate the effect of SH-Vc on the initial development of rice seedlings. The experiment was conducted in a greenhouse, in which rice plants cv. BRS Esmeralda were cultivated in pots containing washed and autoclaved sand as substrate. The nine treatments of SH-Vc (0, 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg L<sup>-1</sup>) were incorporated into the nutrient solution and changed every three days. Collections were carried out 72, 96, 120 and 144 hours after the start of treatments. The experiment used was completely randomized (DIC) consisting of nine concentrations of SH-Vc, four collection times and five repetitions. The parameters of fresh and dry matter in their fractions (root and leaf) were analyzed, and the root morphology was studied through the parameters number of roots, mean diameter and root volume. The results obtained in this assay demonstrate that SH-Vc presents a positive response in stimulating biomass production and to the studied root parameters. The SH-Vc response in rice crops depends on the dosage used during the period of exposure of the material, showing a quadratic behavior. The concentrations 40 and 60 mg L<sup>-1</sup> of SH-Vc were more efficient in promoting biomass and root development.

**Keyword:** Biostimulant, vermicompost, root morphology.

### 5.3 INTRODUÇÃO

O aumento significativo da população trouxe diversas mudanças de hábitos quanto à alimentação e geração de resíduos. No Brasil cerca de 50% da geração de resíduo sólido é composto por matéria orgânica, tendo grande parte destinada a aterros sanitários, de acordo com a Lei Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) instituída pela Lei Federal nº 12.305, regulamentada pelo decreto nº 7.404, define a compostagem como método ambiental para destinação dos resíduos orgânicos (BRASIL, 2010).

A geração de resíduos sólidos foi intensificada ao longo dos anos, em consequência do aumento significativo da população e do crescimento econômico, principalmente, após o período da revolução industrial. Esse avanço trouxe mudanças nos hábitos de vida e consumo da população, tornando sua gestão um dos principais desafios para o planejamento sanitário das cidades, já que sua disposição inadequada traz inúmeros riscos à população e ao meio ambiente (BEZERRA et al., 2020).

A vermicompostagem é uma técnica de baixo custo que utiliza resíduos sólidos orgânicos, promovendo a oxidação da matéria orgânica por ação de microrganismos presentes no trato digestivo de minhocas aumentando a velocidade de decomposição, sendo necessário o controle de temperaturas elevadas, neste processo o produto gerado consiste num material rico em nutrientes, com alta estabilização e produção de substâncias húmicas (AMORIM et al., 2005; DOMÍNGUEZ et al., 1997), com maior proporção de compostos aromáticos e polissacarídeos (LOQUET & VINCELAS, 1987).

As substâncias húmicas (SH) interagem com diversos atributos do solo, melhorando características estruturais além de desempenhar papel chave nas funções das plantas (BERBARA & GARCÍA, 2014). No solo favorecem o aumento da agregação do solo, a disponibilidade de água e nutriente, contribuindo para elevação da CTC (MORREIRA, 2007; PICCOLO, 2001). Além disso, essas substâncias apresentam efeito direto sob as plantas, seu principal efeito assemelha-se a ação de auxinas, tendo o efeito mais comumente observado na estimulação do crescimento radicular (CANELLAS et al., 2002; FAÇANHA et al., 2002; NARDI, 2002). O incremento no sistema radicular possibilita maior área de exploração no solo e, conseqüente maior absorção de nutrientes (BARRAL, 2015)

Na parte aérea foi observado maior produção de proteínas e conteúdos fotossintéticos, além da promoção da biomassa em diversas espécies de plantas. Estudos mostram a eficiência da SH ao nível fisiológico das plantas, causando modificações nos metabolismos primário e secundário (BERBARA & GARCIA, 2014; CANELLAS et al., 2002; FAÇANHA et al., 2002a ; BARRAL., 2015)

Apesar dos efeitos positivos no desenvolvimento vegetal deve-se considerar que, devido à sua complexidade estrutural, os efeitos das SH no sistema vegetal variam de acordo com a espécie e idade planta, do órgão analisado, da origem e concentração das SH e das condições em que este foi aplicada ( ROSE et al., 2014; CHEN et al., 2004; KONONOVA, 1982).

Portanto, o presente capítulo tem como objetivo estudar a influência da substância húmica no desenvolvimento vegetal e na morfologia radicular, a fim de determinar a dose-resposta para cultura do arroz.

## 5.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.4.1 Produção e origem do vermicomposto estudado

A substância húmica empregada nos estudos realizados neste trabalho foi extraída de vermicomposto de esterco de bovino com presença de restos vegetais produzido na Fazenda Agroecológica pertencente a EMBRAPA Agrobiologia localizada no município de Seropédica-RJ. O processo de vermicompostagem consiste inicialmente no repouso do esterco bovino fresco em canteiro até estabilização da temperatura em torno de 25°C, posteriormente são adicionadas minhocas (*Eisenia foetida*) para degradação da matéria orgânica, o material permanece em repouso por três meses (90 dias) para finalização do processo de humificação do material.

### 5.4.2 Extração de substância húmica íntegra

A SH de vermicomposto foi extraída segundo a metodologia recomendada pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS, 2013). Na extração foi utilizado KOH 0,1mol L<sup>-1</sup>, na razão vermicomposto: extrator de 1:10 (v/v), sendo submetido à atmosfera inerte de N<sub>2</sub> e posto em agitação por mixer a 470 rpm por 16 horas. Finalizada a agitação, o material foi mantido em repouso para decantação da fração mais densa, o sobrenadante coletado foi levado à centrifugação (4000 rpm) por 10 minutos, em seguida filtrado e neutralizada (pH= 7,0) a solução com HCl 6 mol L<sup>-1</sup>. Ao final do processo, o material extraído foi colocado em tubo falcon e congelado a -80 °C, seguindo posteriormente a liofilização.

### 5.4.3 Material vegetal e condições gerais de experimentação

O experimento de bioatividade de SH-Vc em arroz (*Oryza sativa* L. cv. BRS Esmeralda ) foi conduzido em casa de vegetal do Instituto de Agronomia-UFRRJ, localizado no município de Seropédica, RJ. As sementes de arroz foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (2%) por 10 minutos e posteriormente lavadas com água destilada. A fim de garantir a homogeneidade das plantas, as sementes foram semeadas sob gaze em vaso contendo água destilada, após a germinação as plântulas receberam solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada com ¼ da força iônica (f.i). Após sete dias da semeadura, foram selecionadas as plântulas mais homogêneas e transferidas para potes contendo areia lavada e autoclavada.

Passados quatro dias de aclimação, aplicaram-se os tratamentos. Cada concentração de SH-Vc foi dissolvida em solução nutritiva ½ f.i para serem adicionadas nos potes, onde esta mesma solução foi repostada durante todo experimento a cada três dias.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por nove concentrações de SH-Vc (0, 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg L<sup>-1</sup>), com coletas nos períodos de 72h, 96h, 120h e 144h, tendo cada tratamento cinco repetições, contento 4 plantas por vaso. As análises estatísticas foram realizadas pelo Programa R.

#### 5.4.4 Parâmetros de desenvolvimento vegetal

As coletas para avaliações de desenvolvimento vegetal iniciaram após 72h da aplicação dos tratamentos.

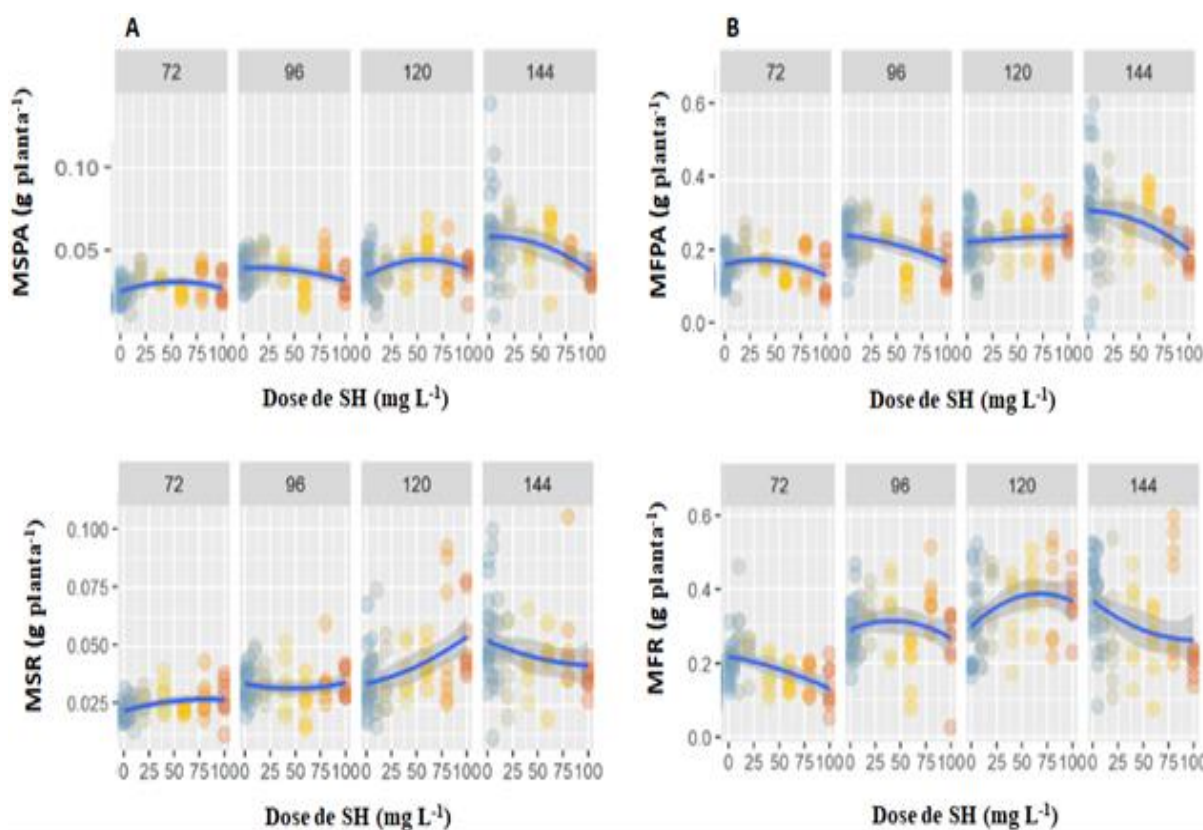
A matéria fresca (MF) e seca (MS), em suas frações (raiz, aérea), foi quantificada nos intervalos correspondente a cada coleta, computando-se as massas de cada parte em balança analítica de precisão. O material fresco logo após a pesagem inicial foi levado à estufa de ventilação forçada e mantido até que a massa da matéria seca torna-se constate.

Quanto à arquitetura radicular, foram realizadas avaliações a partir de 72h após adição dos tratamentos, e acompanhadas a cada 24 horas até completar 144 horas. Os parâmetros radiculares analisados foram: número de raízes, diâmetro médio (mm) e volume da raiz ( $\text{mm}^3$ ), cada parâmetro foi separado em classes de raízes superfina ( $0,5 < d < 1,5$  mm), fina ( $1,5 < d < 3,5$  mm) e grossas ( $d > 3,5$  mm). Nesta avaliação, utilizou-se o equipamento de scanner profissional Epson Expression 10000 XL, equipado com luz adicional (TPU) com resolução de 600 dpi (pontos por polegada), as imagens capturas foram analisadas com auxílio do programa WinRhIZO (Reagent Instruments Inc., Quebec, Canadá), os dados salvos em documento de notas, foi convertido ao Excel para análises dos dados.

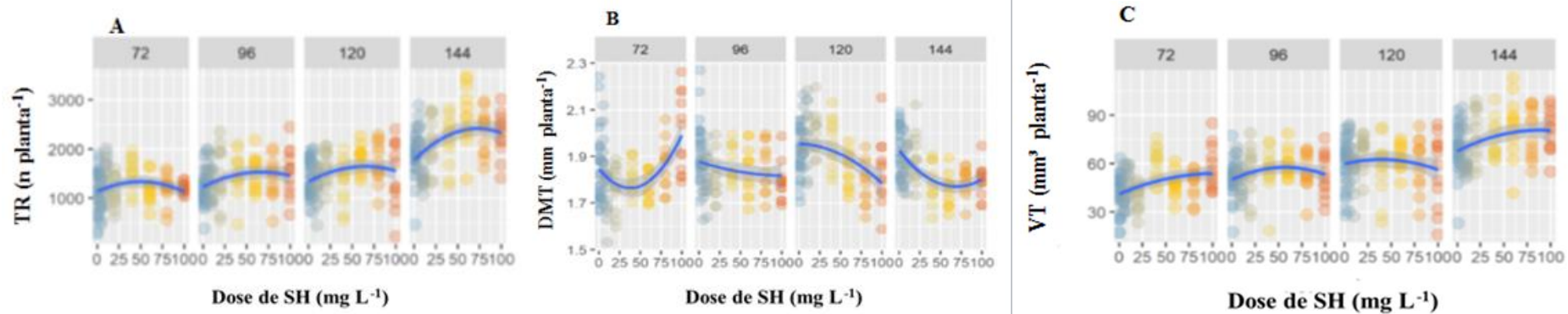
## 5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.5.1 Produção de biomassa

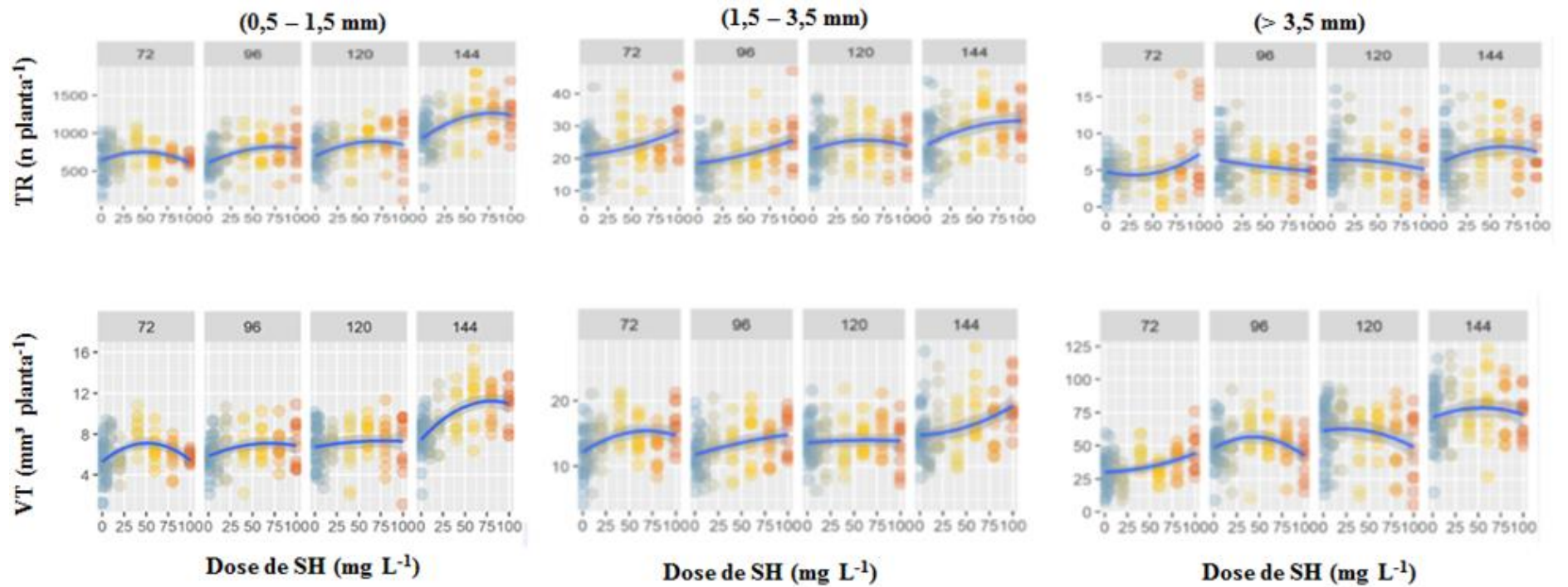
Os tratamentos com substâncias húmicas isoladas de vermicomposto em suas diversas concentrações contribuíram ao desenvolvimento vegetal, no crescimento da parte aérea e na morfologia radicular (Figura 8 e Figura 9). Os efeitos da SH-Vc em solução nutritiva em *Oryza sativa* L. depende do tempo de exposição e a concentração.



**Figura 8.** Dose resposta das variáveis mensuradas a cada 24h no intervalo de 72-144h em plântulas de arroz cv. BRS esmeralda sob doses crescentes de substância húmica extraída de vermicomposto. (A) Matéria seca da parte aérea (MSPA); (B) Matéria fresca da parte aérea (MFPA); (C) Matéria seca da raiz (MSR); (D) Matéria fresca da raiz (MFR).



**Figura 9.** Dose resposta das variáveis mensuradas a cada 24h no intervalo de 72-144h em plântulas de arroz cv. BRS esmeralda sob doses crescentes de substância húmica extraída de vermicomposto. (A) Total de raízes; (B) Diâmetro médio total; (C) Volume total.



**Figura 10.** Dose resposta das variáveis radiculares mensuradas (total de raízes e volume total) dentro das classes de raízes super finas (0,5-1,5 mm), fina (1,5-3,5 mm) e grossas (> 3,5 mm) em intervalo de 72h-144h em plântulas de arroz cv. BRS Esmeralda sob doses crescentes de substância húmica extraída de vermicomposto.

O incremento de substância húmica íntegra isolada de vermicomposto em solução nutritiva proporcionou aumento da matéria fresca e seca da parte aérea e radicular. O estímulo observado foi dependente da concentração e do tempo de exposição da planta à SH-Vc (Figura x e x). A MFPA e MFPA apresentaram tendência com aumento das concentrações, após 144 horas de exposição da planta à SH, verificou que as maiores doses reduziram a produção de biomassa da parte aérea.

Na MFR e MSR tiveram aumento durante as 120 horas de ensaio, porém as 144 horas de exposição aos tratamentos a dose máxima inibiu e/ ou reduziu o crescimento radicular.

O incremento da biomassa deve-se ao fato da aplicação de SH aumentar absorção de nutrientes presentes no solo e/ou de fertilizante, conseqüentemente promove o crescimento das plantas (CELIK et al., 2011; ZANDONADI et al., 2007). Segundo Borsari (2013) as substâncias húmicas são separadas por solubilidade em ácido húmico e fúlvico, ambos apresentam efeito sobre a absorção de nutrientes pelas plantas, pois são capazes de se ligar com sítios ativos de absorção na membrana plasmática e também funcionam como carreadores de nutrientes do meio externo para o meio interno através de interações com os fosfolípidos.

É importante salientar que diversos fatores podem interferir na bioatividade da substância húmica: (a) a espécie e a idade da planta, cada órgão da planta pode ter respostas diferentes à SH; (b) material de origem e forma de extração; (c) características físico-químicas do material; (d) concentração de SH utilizada, esta pode apresentar efeito estimulante ou inibitório na planta (ZANDONADI et al., 2014). Diante disto, a escolha do material para isolamento e a concentração empregada em determinada cultura devem ser levados em consideração para que não ocorra efeitos indesejáveis.

Diversos autores sugerem que os ácidos húmicos possuem ação de bioestimulante pois acredita-se na atividade similar a fitormônios de classe auxínica, podendo promover o crescimento do vegetal até mesmo em concentrações pequenas (BALDOTTO et al., 2009; FAÇANHA et al., 2002)

O efeito provocado pelas SH pode ser atribuído ao aumento da permeabilidade da membrana plasmática e a ativação da H<sup>+</sup>-ATPase, este processo esta ligado diretamente a vários mecanismos importantes no desenvolvimento e crescimento vegetal tais como: (a) energização de sistemas secundários de translocação de íons fundamentais para a absorção de macro e micronutrientes, e (b) aumento da plasticidade da parede celular para possibilitar o processo de crescimento e divisão da célula vegetal (RODDA et al., 2006).



## 5.6 CONCLUSÃO

Nas condições em que o presente ensaio foi conduzido, pode-se concluir que:

A SH-Vc proporcionou incremento de todos os parâmetros estudados, tanto da fração aérea quanto a radicular da planta.

As doses de 40 e 60 mg L<sup>-1</sup> de SH-Vc mostraram maior estímulo através do incremento na produção de biomassa e no desenvolvimento radicular.

## 5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, A. C.; LUCAS JUNIOR, J.; RESENDE, K. T. Compostagem e vermicompostagem de dejetos de caprinos: efeito das estações do ano. *Revista Engenharia Agrícola*, v.25, n.1, p.57-66, 2005

BALDOTTO, L. E. B et al. Desempenho do abacaxizeiro Vitória em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante aclimação. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.33, n.4, p.979-990, 2009

CIESLEWICZ, J.; NIEDZWIECKI, E.; PROTASOWICKI, M.; GONET, S.S. Humus properties of bottom sediments from the Szczecin Lagoon (North-West Poland). In: DROZD, J.; GONET, S.; SENESI, N.; WEBER, J. (Eds). *The role of humic substance in the ecosystems and in environmental protection. Proc. 8th Meeting International Humic Substances Society. Wroclaw, Poland, 1997.*

DEBSKA, B. The effect of green manure on the properties of soil humic acids. In: DROZD, J.; GONET, S.; SENESI, N.; WEBER, J. (Eds.). *The role of humic substance in the ecosystems and in environmental protection. Proc. 8th Meeting International Humic Substances Society. Wroclaw, Poland, 1997.*

DOMÍNGUEZ, J.; EDWARDS, C. A.; SUBLER, S. A. Comparison of composting and vermicomposting. *Biocycle*, v.38,n.4,p.57-59, 1997.

FAÇANHA, A. R. et al Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.9, p.1301-1310, 2002.

International Humic Substances Society, 2013. Disponível em: <http://www.humicsubstances.org/>. Acesso em: 15 04 2019.

KONONOVA, M. M. *Materia orgânica del suelo: su naturaliza, propiedades y métodos de investigación.* Barcelona, Oikos-Tau, 364p., 1982.

LOQUET, M. & VINCESLAS, M. Cellulolytic and ligninolytic activities in the gut of *Eisenia foetida*. **Rev. d'ecol. Boil. Sols**, v. 24, p. 559-560, 1987.

NARDI, S.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A.; VIANELLO, A. Physiological effects of humic substances in higher plants. **Soil Biology and Biochemistry**, v.34, p. 1527-1537

ORLOV, D. S. *Humus Acids of Soils.* Moscow University Press. Translated from Russian. TAN, K. H (Ed.). Amerind Publ. New Delhi, India, 1985.

RODDA, M.R.C.; CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R.; ZANDONADI, D.B.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L. & SANTOS, G.A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP

em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. I - Efeito da concentração. R. Bras. Ci. Solo, 30:649-656, 2006.

TORRENTS, A.; JAYASUNDERA, S.; SCHMIDT, W.J. Influence of the polarity of organic matter on the sorption of acetamide pesticides. Journal of Agriculture Food Chemistry. V.45, p.3320-3325, 1997.

ZANDONADI, D. B.; CANELLAS, L. P.; FAÇANHA, A. R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. **Planta**, p.1583-1595, 2007

## **6 CAPÍTULO III**

### **INTERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA HÚMICA E FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES NO DESENVOLVIMENTO DA CULTURA DE ARROZ SOB ESTRESSE POR CÁDMIO**

## 6.1 RESUMO

O presente capítulo teve como objetivo avaliar a influência da interação de SH-Vc em arroz cv. BRS Esmeralda micorrizado sob estresse por cádmio. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em que plantas de arroz cv. BRS Esmeralda foram cultivadas em vasos contendo como substrato areia lavada e autoclavada. As plantas foram transplantadas em substrato contendo inóculo de cada tratamento (*Acaulospora mellea*, *Glomus formosanum*, *Glomus* sp e *Rhizophagus clarus*) combinados com presença ou ausência de substância húmica de vermicomposto e cádmio totalizando vinte tratamentos. Foram avaliados aos 65 dias após o transplante os parâmetros de matéria fresca e seca da parte aérea radicular, altura da planta, teor de fósforo, teor de cádmio, colonização micorrízica e número de esporos. Observou-se nos resultados a interação benéfica do *Glomus* sp na cultura de arroz, assim como, a interação da substância húmica com fungos micorrízicos na promoção do crescimento vegetal. Verificou no presente trabalho que o uso de fungos micorrízicos aumentou o teor de cádmio no tecido vegetal.

**Palavra-chave:** Bioestimulante, vermicomposto, metal pesado.

## 6.2 ABSTRACT

This chapter aimed to evaluate the influence of SH-Vc interaction in rice cv. BRS Emerald mycorrhizal under cadmium stress. The experiment was conducted in a greenhouse, in which rice plants cv. BRS Esmeralda were cultivated in pots containing washed and autoclaved sand as substrate. Plants were transplanted in substrate containing inoculum of each treatment (*Acaulospora mellea*, *Glomus formosanum*, *Glomus* sp and *Rhizophagus clarus*) combined with the presence or absence of vermicompost humic substance and cadmium, totaling twenty treatments. At 65 days after transplanting, the parameters of fresh and dry matter of root shoot, plant height, phosphorus content, cadmium content, mycorrhizal colonization and number of spores were evaluated. It was observed in the results the beneficial interaction of *Glomus* sp in the rice crop, as well as the interaction of humic substance with mycorrhizal fungi in promoting plant growth. It was verified in the present work that the use of mycorrhizal fungi increased the cadmium content in plant tissue.

Keyword: Biostimulant, vermicompost, heavy metal.

## 6.3 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial, conseqüentemente a intensificação de atividades agrícolas, industriais e mineradoras, tem sido evidenciado o aumento da acumulação de metais pesados no ambiente, dentre eles o cádmio (ZHANG et al., 2017). A acumulação de metais pesados no solo, que pode causar toxicidade severa em plantas, assim como em seres humanos (TAIZ et al., 2017). O cádmio é um elemento carcinógeno para seres humanos e tóxicos para células vivas, mesmo em baixas concentrações pode provocar a morte de plantas (Stohs et al., 2000).

Na China uma pesquisa revelou que cerca de 10% das terras chinesas estavam contaminadas por metais tóxicos, tornando a prática da agricultura inviável nestes locais por apresentarem sérios riscos à saúde humana (JAISHANKAR et al., 2014.; FASAHAT, 2014.; REN et al., 2003). No Brasil, a contaminação dos solos levou a regulamentação de diretrizes através da Resolução CONAMA 420/2009 alterada pela Resolução 460/2013, para o manejo ambiental de áreas contaminadas em decorrência de atividades antrópicas (CONAMA, 2009).

Esforços estão em curso para conferir tolerância ao cádmio em espécies de culturas sensíveis a sua presença, utilizando tanto o melhoramento clássico de plantas como a biotecnologia. Outras formas podem ser utilizadas para remoção de metal pesado presente no solo, no entanto as técnicas físico-químicas possuem custo altíssimo, e a aplicação de técnicas de fitorremediação ou biorremediação tem-se mostrado promissoras, sendo objeto de estudo visando a sua utilização na recuperação de áreas contaminadas (MARTINS; MELLONI; MELLONI, 2017).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), além de melhorar a absorção de fósforo em solos onde apresentam deficiência deste elemento, também podem ser utilizados na fitorremediação ou fitoestabilização dos metais pesados ao produzirem e liberarem na região rizosférica compostos que se ligam aos metais pesados, complexando-os e diminuindo sua mobilidade (KHAN, 2005; SANCHEZ & SALINAS, 1981).

Um estudo com substâncias produzidas pelos fungos micorrízicos, identificou na extração de solos contaminados por Cu, Pb e Cd, uma proteína conhecida como glomalina e hifas do FMA isolado *Gigaspora rosea*, e identificaram este fungo como potencial fitorremediador tanto da proteína extraída do solo quanto da extraída das hifas (VODNIK et al., 2007; GONZÁLES-CHAVÉZ et al., 2004).

Desta forma, o objetivo deste ensaio foi avaliar a influência da interação da substância húmica com as espécies de fungos micorrízicos no estabelecimento e no desenvolvimento da simbiose micorrízica na cultura do arroz na interação com FMA em plantas de arroz sob estresse por cádmio.

## 6.3 MATERIAL E MÉTODOS

### 6.3.1 Material e condições gerais de experimentação

O experimento de interação de SH-Vc e FMA no desenvolvimento de arroz sob estresse por cádmio foi instalado em casa de vegetação do Laboratório de Micorrizas da Embrapa-Agrobiologia, localizado no município de Seropédica-RJ. Neste experimento foram utilizadas linhagens de FMAs pertencentes ao COFMEA, selecionadas a partir de levantamento de literatura e disponibilidade de material, além da aplicação de dose resposta de SH-VC (60 mg L<sup>-1</sup> C) obtida para a cultura no experimento II e a dose máxima tolerável de Cd (0,025 mM) obtida no primeiro experimento.

As sementes de arroz desinfetadas com hipoclorito de sódio (2%) foram lavadas com água destilada e deixadas sob gaze embebidas em água destilada até a germinação, após quatro dias da germinação receberam solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) modificada com ¼ da força iônica (f.i), depois de três dias a solução foi trocada para ½ f.i total.

Ao alcançar tamanho homogêneo entre as plântulas, foram selecionadas plântulas uniformes e transplantadas quatro plântulas por potes contendo substrato de areia lavada e autoclavada. No momento do transplantio houve aplicação dos tratamentos de inoculação no substrato, utilizando inoculante-solo na quantidade suficiente para que se tenha no mínimo 100 esporos por pote. As plantas foram mantidas em aclimação por sete dias, sendo fornecida solução de Hoagland modificada por Jarstfer e Sylvia (1995), esta mesma solução foi repostada a cada três dias durante a condução do experimento. Em seguida ao período de aclimação, deu-se início a diferenciação dos tratamentos contendo SH-Vc e Cd<sup>+2</sup>, os quais foram inseridos na solução nutritiva.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 20 tratamentos, constituído por 5 tratamentos de inoculação combinados com ausência/ presença SH-Vc e metal pesado (Cl<sub>2</sub>Cd), distribuídos em 15 blocos (repetições).

A coleta do experimento ocorreu aos 65 dias após a aplicação dos tratamentos.

### 6.3.2 Parâmetros de desenvolvimento vegetal

As coletas para avaliações de desenvolvimento vegetal ocorreram aos 65 dias da aplicação dos tratamentos.

A matéria fresca (MF) e seca (MS), em suas frações (raiz, aérea), foi quantificada nos intervalos correspondente a cada coleta, computando-se as massas de cada parte em balança analítica de precisão. O material fresco logo após a pesagem inicial foi levado à estufa de ventilação forçada e mantido até que a massa da matéria seca torna-se constate.

### 6.3.3 Determinação química no material vegetal

Para determinação dos teores de Ca, Mg, Zn, Cu, Fe e Cd presentes na parte aérea e radicular do arroz, utilizou-se as amostras secas e moídas, as quais passaram pelo processo de



digestão nítrica adotando o método 3050 (modificado) postulado pela USEPA (2008). Para tal, foi pesado em torno de 100 mg de cada amostra, em seguida depositadas em tubo de digestão juntamente com HNO<sub>3</sub> (65%) e deixadas em bloco digestor por 2 horas e 15 minutos a  $95 \pm 5$  °C . Após o tempo determinado, as amostras retiradas do bloco digestor foram mantidas em temperatura ambiente até o resfriamento do material, adicionou-se H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) e ao término da efervescência, o conteúdo digerido foi transferido para tubos de polietileno onde avolumou-se com água deionizada e destilada para 12 mL.

A determinação dos nutrientes em questão foi realizada por espectrometria de absorção atômica (Agilent Technologies, modelo Variam SpectrAA 55B). A fim de garantir o controle de qualidade das análises, foi realizada a leitura da solução sem adição de amostra vegetal, possibilitando identificar possíveis contaminações nas soluções.

A partir das concentrações encontradas nas amostras, calculou-se a quantidade acumulada de nutriente e metal pesado nas folhas e raízes das plantas de cada tratamento.

### **6.3.4 Determinação da densidade de esporos (DE)**

Os esporos foram extraídos em 50 cm<sup>3</sup> do substrato segundo método por peneiramento úmido (GERDEMANN e NICOLSON, 1963) seguido de duas centrifugações em água e sacarose 50% (JENKINS, 1964).

### **6.3.5 Avaliação da colonização micorrízica**

O método da interseção em placa quadriculada (Gridline Intesect Method) é frequentemente utilizado para avaliar a colonização de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em raízes, adaptado por Giovannetti & Mosse (1980) a partir do método descrito por Newman (1966). Neste método as raízes são dispostas em uma placa de Petri quadriculada de ½ polegada desenhado por toda placa e as raízes são observadas em microscópio estereoscópio (Lupa) com aumento mínimo de 40x.

## 6.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.4.1 Efeitos da inoculação micorrízica e substância húmica no desenvolvimento vegetal.

No experimento realizado em casa de vegetação conduzido durante 65 dias, foi observado efeito positivo da inoculação micorrízica na cultura de arroz. Os parâmetros de crescimento vegetal, matéria fresca (MF), matéria seca (MS) e altura da planta foram estimulados pela inoculação micorrízica (Tabela 3 e Tabela 6). A partir do desdobramento de FMA dentro do nível de SH, verifica-se que o fungo *Glomus* sp. promoveu o maior incremento na produção de matéria fresca e seca.

**Tabela 3.** Massa da parte aérea fresca (MFPA) e seca (MSPA), e das raízes frescas (MFR) e secas (MSR) de arroz sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (SHCom) e ausência (SHSem) de substâncias húmicas.

I-FMA	MFPA		MSPA		MFR		MSR	
	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem
	-----g.planta <sup>-1</sup> -----							
Amel	0,48 a	> 0,42 b	0,13 b	≈ 0,12 b	0,67 b	≈ 0,55 c	0,12 a	≈ 0,11 B
Gfor	0,51 a	> 0,44 b	0,15 a	> 0,13 b	0,89 a	> 0,72 b	0,14 a	≈ 0,12 B
Gsp	0,51 a	≈ 0,52 a	0,15 a	≈ 0,14 a	0,85 a	≈ 0,97 a	0,16 a	< 0,21 A
Rcla	0,43 b	≈ 0,43 b	0,13 b	≈ 0,12 b	0,71 b	≈ 0,67 b	0,12 a	≈ 0,11 B
TNI	0,44 b	≈ 0,43 b	0,13 b	≈ 0,12 b	0,72 b	≈ 0,70 b	0,12 a	≈ 0,12 B
Média	0,48	> 0,45	0,13	> 0,12	0,77	≈ 0,72	0,13	≈ 0,13

Amel: *Acaulospora mellea*; Gfor: *Glomus formosanum*; Gsp: *Glomus* sp; Rcla: *Rhizophagus clarus*; TNI: testemunha não inoculada. Letras iguais na coluna indicam que as médias de I-FMA não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≈: respectivamente indicam média SHCom maior, menor e não diferente que média SHSem pelo teste de Scott Knott 5%.

Nas condições experimentais deste ensaio ficou evidenciado que o tratamento com inoculação do fungo micorrízico *Glomus* sp promoveu incremento da matéria fresca e seca da parte aérea e radicular do arroz cv. BRS Esmeralda, quando comparado ao tratamento controle. Os demais tratamentos com inoculação dos fungos *G. formosanum*, *A. mellea* e *R. clarus* não apresentaram diferença estatística quando comparados ao tratamento sem inoculação. No entanto, nos tratamentos de FMA com aplicação conjunta de SH, houve incremento da MFPA com o uso das cepas *A. mellea*, *G. formosanum* e *Glomus* sp, porém no parâmetro MSPA apenas as cepas *G. formosanum* e *Glomus* sp combinadas com SH tiveram resultados significativos. Resultados semelhantes foram observados para a MFR, entretanto para o parâmetro MSR nenhum tratamento de FMA em conjunto com SH diferiu estatisticamente entre si.

Neste contexto, a cepa *Glomus* sp mostrou maior interação com a cultivar de arroz BRS Esmeralda. No tratamento de inoculação com *Glomus* sp e adição de SH não houve diferença significativa na produção de biomassa em relação à inoculação da mesma cepa sem adição de SH.

As SHs possuem diversos efeitos benéficos em diferentes culturas, estudo realizado por Rady e Rehman, (2016) notaram também aumento significativo no crescimento vegetal da cultura do tomateiro quando adicionado ácido húmico.

Na tabela 4 estão apresentados os resultados de biomassa de arroz em condição experimental com a presença de cádmio. A cultivar estudada foi negativamente afetada pela presença do metal pesado. A aplicação de FMAs na presença de Cd não diferiu estatisticamente nas MFPA, MFR e MSR, somente na MSPA, os tratamentos com *Glomus* sp e *G. formosanum* apresentaram efeito benéfico em condição de presença de cádmio, os mesmos quando analisados sem a presença do metal pesado também apresentaram as maiores médias de produção de MSPA, demonstrando resposta benéfica do fungo tanto em condições de presença ou ausência de Cd.

Os resultados obtidos corroboram com diversos trabalhos que apontam a redução da biomassa em arroz com o aumento da dosagem Cd<sup>+2</sup>, tal fato pode ser explicado devido à toxicidade do Cd poder reduzir o crescimento da planta (YANG, et al. 2016a; YANG, et al. 2016b).

**Tabela 4.** Massa da parte aérea fresca (MFPA) e seca (MSPA), e das raízes frescas (MFR) e secas (MSR) de arroz sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (CdCom) e ausência (CdSem) de cádmio.

I-FMA	MFPA		MSPA		MFR		MSR	
	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem
	-----g.planta <sup>-1</sup> -----							
Amel	0,25 a	< 0,65 b	0,07 b	< 0,18 b	0,31 a	< 0,90 d	0,05 a	< 0,18 B
Gfor	0,27 a	< 0,68 b	0,08 a	< 0,19 a	0,39 a	< 1,22 b	0,06 a	< 0,19 B
Gsp	0,30 a	< 0,73 a	0,08 a	< 0,21 a	0,46 a	< 1,37 a	0,09 a	< 0,28 A
Rcla	0,23 a	< 0,63 b	0,06 b	< 0,18 b	0,32 a	< 1,06 c	0,05 a	< 0,18 B
TNI	0,26 a	< 0,62 b	0,07 b	< 0,17 b	0,37 a	< 1,05 c	0,06 a	< 0,17 B
Média	0,26	< 0,66	0,07	< 0,19	0,37	< 1,12	0,06	< 0,20

Amel: *Acaulospora mellea*; Gfor: *Glomus formosanum*; Gsp: *Glomus* sp; Rcla: *Rhizophagus clarus*; TNI: testemunha não inoculada. Letras iguais na coluna indicam que as médias de I-FMA não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média CdCom maior, menor e não diferente que média CdSem pelo teste de Scott Knott 5%.

Analisando o efeito da SH na cultura do arroz sob estresse por Cd<sup>+2</sup> (Tabela 5), é possível verificar que a presença de SH não apresentou diferença significativa na produção de biomassa, indicando que o tratamento com SH não obteve incremento no crescimento vegetal sob ambiente de estresse, porém em condições adequadas para o desenvolvimento da cultura foi observado incremento na produção de biomassa.

**Tabela 5.** Massa da parte aérea fresca (MFPA) e seca (MSPA), e das raízes frescas (MFR) e secas (MSR) de arroz sob tratamentos de presença e ausência de substâncias húmicas (SH) e cádmio no substrato.

SH	MFPA		MSPA		MFR		MSR	
	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem
	-----g.planta <sup>-1</sup> -----							
SHCom	0,25 a	< 0,70 a	0,07 a	< 0,20 a	0,33 a	< 1,21 a	0,05 a	< 0,21 A
SHSem	0,28 a	< 0,62 b	0,08 a	< 0,18 b	0,41 a	< 1,03 b	0,07 a	< 0,19 A
Média	0,26	< 0,66	0,07	< 0,19	0,37	< 1,12	0,06	< 0,20

CdCom: presença de cádmio; CdSem: ausência de cádmio; SHCom: presença de substâncias húmicas; SHSem: ausência de substâncias húmicas. Letras iguais na coluna indicam que as médias de SH não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média CdCom maior, menor e não diferente que média CdSem pelo teste de Scott Knott 5%.

Os resultados de altura da planta (Tabela 6) referente aos tratamentos com inoculação micorrízica em conjunto com SH corroboram com os resultados obtidos na produção de biomassa (Tabela 3), demonstrando que o *Glomus* sp apresenta efeito positivo quando associado à cultura de arroz. A combinação de FMA e SH favoreceu o crescimento da planta quando utilizado *A. mellea*, *G.formosanum* e *Glomus* sp. Trabalho realizado por Bakry et al. (2014), encontraram estímulo significativo da combinação de FMA e AH na altura das plantas de linho (*Linum usitatissimum* L.).

No presente estudo o curto período de experimentação proporcionou baixa taxa de colonização micorrízica nas raízes de arroz. Nos tratamentos sem a presença de SH não houve diferença significativa, no entanto, a combinação de SH-Vc com *Glomus* sp, e *R. clarus* resultaram em maior taxa de colonização quando comparados ao tratamento controle. É importante observar que o tratamento controle não houve presença de estruturas de colonização observadas nas raízes colonizadas, indicando a eficiência de esterilização do substrato.

A interação positiva verificada neste trabalho entre SH e os FMAs deve-se ao fato de pequenas concentrações de compostos orgânicos presentes em SHs estimularem o crescimento de hifas intra e extrarradiciais de FMA (GRYNDLER et al., 2002), consequentemente interferem em uma maior taxa de colonização radicular e maior absorção de nutrientes e água para as plantas ao explorar maior volume de solo através de sua rede micelial (CAMEL et al., 1999).

O número de esporos nos tratamentos com FMA apenas a inoculação com *R. clarus* diferiu significativamente das demais. A combinação SH-FMA resultou no aumento de esporos encontrados nos substratos inoculados com *R. clarus* e *A. mellea*.

Diversos autores apontam a grande eficiência do FMA na otimização da absorção de fósforo em várias espécies vegetais (RAO & TAK, 2002). Nas condições experimentais em que foi conduzido o presente ensaio não foi observado eficiência da absorção de fósforo pelos inoculantes micorrízicos e nem pela SH, o mesmo foi observado no desdobramento de FMA em contato com cádmio (Tabela 7).

**Tabela 6.** Altura, teor de fósforo na parte aérea (T-P-PA), colonização micorrízica e número de esporos sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (SHCom) e ausência (SHSem) de substâncias húmicas.

I-FMA	Altura		T-P-PA		Colonização*		Esporos*	
	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem
	(cm)		(g kg <sup>-1</sup> )		(% )		(n° 50mL <sup>-1</sup> )	
Amel	23,8 A ≅	23,1 b	0,51 a ≅	0,60 a	0,51 b ≅	1,84 a	4,82 b ≅	1,91 b
Gfor	23,5 A ≅	22,2 b	0,55 a ≅	0,55 a	0,00 b ≅	0,60 a	0,44 c ≅	0,77 b
Gsp	24,6 A <	26,9 a	0,61 a ≅	0,57 a	2,13 a >	0,23 a	2,83 c ≅	3,27 b
Rcla	21,7 B ≅	21,2 b	0,59 a ≅	0,50 a	1,08 a ≅	1,08 a	10,54 a ≅	9,12 a
TNI	22,1 B ≅	22,2 b	0,61 a ≅	0,57 a	0,00 b ≅	0,00 a	0,18 c ≅	0,48 b
Média	23,2 A ≅	23,1 A	0,57 A ≅	0,56 A	0,66 A ≅	0,69 A	3,05 A ≅	2,61 A

Amel: *Acaulospora mellea*; Gfor: *Glomus formosanum*; Gsp: *Glomus* sp; Rcla: *Rhizophagus clarus*; TNI: testemunha não inoculada. Letras iguais na coluna indicam que as médias de I-FMA não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média SHCom maior, menor e não diferente que média SHSem pelo teste de Scott Knott 5%. \*:valores destransformados por x<sup>2</sup>-1.

Para o parâmetro de altura, a cepa *Glomus* sp foi eficiente em promover o crescimento da planta, mesmo sob estresse por Cd, diferiu significativamente das demais. Embora muitos trabalhos apontem a eficiência dos FMAs na absorção de fósforo em ambientes com baixa concentração de fósforo, o presente ensaio não obteve resposta para esta parâmetro.

A presença de metal pesado no meio afetou negativamente a colonização de FMAs nas raízes, porém maior colonização em tratamentos sem Cd, vale ressaltar que embora tenham apresentado diferença estatística, todos os tratamentos apresentaram baixa colonização.

O estresse abiótico provocado por metal pesado influencia o ciclo biológico dos FMAs, atuam de modo diferenciado nas fases do ciclo biológico desses fungos. Esses efeitos são observados na colonização radicular, na esporulação micelial (KLAUBERG-FILHO et al., 2005).

A presença de esporos em ambientes contaminados por metal pesado demonstram que os propágulos não desaparecem por completo, sugerindo adaptação em ambiente sob estresse (DEL VAL et al., 1999).

**Tabela 7.** Altura, teor de fósforo na parte aérea (T-P-PA), colonização micorrízica das raízes e número de esporos sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (CdCom) e ausência (CdSem) de cádmio.

I-FMA	Altura		T-P-PA		Colonização*		Esporos*	
	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem
	(cm)		(g kg <sup>-1</sup> )		(%)		(n° 50mL <sup>-1</sup> )	
Amel	14,2 b	< 32,7 b	0,61 a	≅ 0,51 a	1,23 a	≅ 1,02 a	3,36 a	≅ 3,11 b
Gfor	13,1 b	< 32,7 b	0,57 a	≅ 0,52 a	0,60 a	≅ 0,00 b	1,05 b	≅ 0,21 c
Gsp	16,1 a	< 35,4 a	0,60 a	≅ 0,58 a	0,53 a	≅ 1,69 a	2,64 a	≅ 3,47 b
Rcla	12,0 b	< 31,0 b	0,62 a	≅ 0,47 a	0,00 a	< 2,54 a	6,89 a	< 13,21 a
TNI	13,1 b	< 31,2 b	0,65 a	≅ 0,53 a	0,00 a	≅ 0,00 b	0,25 b	≅ 0,41 c
Média	13,7	< 32,6	0,61	> 0,52	0,44	≅ 0,93	2,50	≅ 3,16

Amel: *Acaulospora mellea*; Gfor: *Glomus formosanum*; Gsp: *Glomus* sp; Rcla: *Rhizophagus clarus*; TNI: testemunha não inoculada. Letras iguais na coluna indicam que as médias de I-FMA não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média CdCom maior, menor e não diferente que média CdSem pelo teste de Scott Knott 5%. \*:valores destransformados por x<sup>2</sup>-1.

Na tabela 8, no desdobramento em relação ao parâmetro altura nota-se que a presença de SH e Cd reduziram a altura das plantas, mas sem o Cd a SH teve resposta positiva. Os outros parâmetros não apresentaram diferença significativa.

**Tabela 8.** Altura, teor de fósforo na parte aérea (T-P-PA), colonização micorrízica das raízes e número de esporos sob diferentes tratamentos de presença e ausência de substâncias húmicas (SH) e cádmio no substrato.

SH	Altura		T-P-PA		Colonização*		Esporos*	
	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem
	(cm)		(g kg <sup>-1</sup> )		(%)		(n° 50mL <sup>-1</sup> )	
SHCom	12,9 b	< 33,5 a	0,64 a	> 0,51 A	0,25 a	≅ 1,13 a	2,05 a	≅ 4,18 a
SHSem	14,5 a	< 31,7 b	0,58 a	≅ 0,53 A	0,64 a	≅ 0,74 a	2,98 a	≅ 2,26 a
Média	13,7	< 32,6	0,61	> 0,52	0,44	≅ 0,93	2,50	≅ 3,16

CdCom: presença de cádmio; CdSem: ausência de cádmio; SHCom: presença de substâncias húmicas; SHSem: ausência de substâncias húmicas. Letras iguais na coluna indicam que as médias de SH não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média CdCom maior, menor e não diferente que média CdSem pelo teste de Scott Knott 5%. \*:valores destransformados por x<sup>2</sup>-1.

Não foi observado efeito da inoculação micorrízica dentro do nível de SH no teor de Cd foliar, porém nas raízes foi observado que sem a presença de SH os tratamentos com *R. clarus* e *A. mellea* tiveram efeito significativo no incremento do teor de Cd na raiz. O Tratamento com *Glomus* sp aumentou o teor de ferro foliar e radicular independentemente da combinação com a SH.

**Tabela 9.** Teor de cádmio nas folhas (T-Cd-F) e raízes (T-Cd-R) e de ferro nas folhas (T-Fe-F) e raízes (T-Fe-R) sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (SHCom) e ausência (SHSem) de substâncias húmicas.

I-FMA	T-Cd-F		T-Cd-R		T-Fe-F		T-Fe-R	
	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem	SHCom	SHSem
	-----mg.kg <sup>-1</sup> -----							
Amel	11,7 a	≅ 8,2 a	8,5 a	≅ 10,9 a	3,40 a	≅ 3,18 a	6,12 b	≅ 5,13 b
Gfor	7,1 a	≅ 8,2 a	10,5 a	≅ 9,1 b	2,64 a	≅ 2,88 a	4,17 b	≅ 5,69 b
Gsp	8,0 a	≅ 5,2 a	9,9 a	≅ 8,3 b	2,96 a	≅ 2,49 a	11,23 a	≅ 11,39 a
Rcla	10,3 a	≅ 12,0 a	9,9 a	≅ 11,2 a	2,76 a	≅ 2,82 a	4,94 b	≅ 5,00 b
TNI	8,3 a	≅ 6,9 a	9,1 a	≅ 8,0 b	2,76 a	≅ 2,93 a	4,99 b	≅ 7,03 b
Média	9,1	≅ 8,1	9,6	≅ 9,5	2,90	≅ 2,86	6,24	≅ 6,78

Amel: *Acaulospora mellea*; Gfor: *Glomus formosanum*; Gsp: *Glomus* sp; Rcla: *Rhizophagus clarus*; TNI: testemunha não inoculada. Letras iguais na coluna indicam que as médias de I-FMA não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média SHCom maior, menor e não diferente que média SHSem pelo teste de Scott Knott 5%.

A avaliação do teor de Cd nas folhas (Tabela 10) do experimento mostrou que os FMAs, em especial *R. clarus* e *A. mellea* contribuíram para a translocação de Cd para as folhas. Nas raízes os tratamentos com *R. clarus* e *G. formosanum* aumentaram o teor de Cd. Na avaliação do teor de Fe na raiz o tratamento com *Glomus* sp contribuiu para o aumento do mesmo.

**Tabela 10.** Teor de cádmio nas folhas (T-Cd-F) e raízes (T-Cd-R) e de ferro nas folhas (T-Fe-F) e raízes (T-Fe-R) sob diferentes tratamentos de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (I-FMA), na presença (CdCom) e ausência (CdSem) de cádmio.

I-FMA	T-Cd-F		T-Cd-R		T-Fe-F		T-Fe-R	
	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem
-----mg.kg <sup>-1</sup> -----								
Amel	19,81 a	> 0,07 a	18,42 b	> 0,13 a	3,53 a	≅ 3,06 a	5,53 a	≅ 5,68 b
Gfor	15,22 b	> 0,09 a	20,31 a	> 0,15 a	3,18 a	> 2,35 a	5,05 a	≅ 4,81 b
Gsp	13,08 b	> 0,13 a	18,05 b	> 0,16 a	3,06 a	≅ 2,33 a	7,87 a	< 14,74 a
Rcla	22,26 a	> 0,09 a	20,89 a	> 0,17 a	3,19 a	> 2,39 a	4,86 a	≅ 5,08 b
TNI	14,61 b	> 0,08 a	16,86 b	> 0,17 a	3,38 a	> 2,32 a	6,32 a	≅ 5,76 b
Média	16,96	> 0,10	18,89	> 0,16	3,27	> 2,49	5,90	< 7,12

Amel: *Acaulospora mellea*; Gfor: *Glomus formosanum*; Gsp: *Glomus* sp; Rcla: *Rhizophagus clarus*; TNI: testemunha não inoculada. Letras iguais na coluna indicam que as médias de I-FMA não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média CdCom maior, menor e não diferente que média CdSem pelo teste de Scott Knott 5%.

Nesse desdobramento não houve diferença significativa no aumento do teor de Cd e Fe na parte aérea e radicular nos tratamentos com a presença de SH e Cd.

**Tabela 11.** Teor de cádmio nas folhas (T-Cd-F) e raízes (T-Cd-R) e de ferro nas folhas (T-Fe-F) e raízes (T-Fe-R) sob diferentes tratamentos de presença e ausência de substâncias húmicas (SH) e cádmio no substrato.

SH	T-Cd-F		T-Cd-R		T-Fe-F		T-Fe-R	
	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem	CdCom	CdSem
-----mg.kg <sup>-1</sup> -----								
SHCom	17,75 a	> 0,09 a	18,99 a	> 0,15 a	3,31 a	> 2,48 a	5,74 a	≅ 6,73 a
SHSem	16,14 a	> 0,10 a	18,78 a	> 0,16 a	3,22 a	> 2,50 a	6,06 a	≅ 7,52 a
Média	16,96	> 0,10	18,89	> 0,16	3,27	> 2,49	5,90	< 7,12

CdCom: presença de cádmio; CdSem: ausência de cádmio; SHCom: presença de substâncias húmicas; SHSem: ausência de substâncias húmicas. Letras iguais na coluna indicam que as médias de SH não diferem pelo teste de Scott Knott 5%. >, < e ≅: respectivamente indicam média CdCom maior, menor e não diferente que média CdSem pelo teste de Scott Knott 5%.



## 6.5 CONCLUSÃO

Os resultados confirmam a hipótese em estudo de que os fungos micorrízicos e as substâncias húmicas, têm efeito benéfico sobre o desenvolvimento da cultura de arroz de sequeiro.

O *Glomus* sp aplicado isoladamente apresentou efeito positivo nos parâmetros de biomassa e altura da planta. A aplicação de *G. formosanum* e *Glomus* sp com SH tiveram resultados positivos no aumento de matéria fresca e seca e taxa de colonização micorrízica.

Em ambiente sob estresse abiótico por cádmio o *Glomus* sp é o inoculante mais indicado, pois não contribui no aumento da absorção de metal pesado

## 6.6 REFERÊNCIAS

- BAKRY, B. A.; TAHA, M. H.; ABDELGAWAD, Z. A.; ABDALLAH, M. M. S. The Role of Humic Acid and Proline on Growth, Chemical Constituents and Yield Quantity and Quality of Three Flax Cultivars Grown under Saline Soil Conditions. **Agricultural Sciences**, v. 5, n. 14, p. 1566–1575, 2014.
- DEL VAL, C.; BAREA, J. M.; AZCÓN-AGUIAR, C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. **Applied and Environmental Microbiology**. V.65, n.2, p.718-723, 1999.
- FAKOUR, H.; LIN, T. F. Experimental determination and modeling of arsenic complexation with humic and fulvic acids. **Journal of Hazardous Material**, v. 279, p.569-578, 2014.
- FASAHAT, P. Advances in Understanding of Cadmium Toxicity and Tolerance in Rice. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v.27, n.1, 2014.
- GERDEMANN, J.; NICHOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological**, v.46, p.235-244, 1963.
- GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *The New Phytologist*, v.84, n.3, p-484-500,1980.
- GONTIJO, E. S. J. et al. Effects of Fe (III)and quality of humic substances on As (V) distribution in freshwater: use of ultrafiltration and Kohonen neural network. **Chemosphere**, v. 188, p.208-217, 2017.
- GONZÁLES-CHÁVEZ, M. C.; CARRILLO-GONZÁLES, R.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, v. 130, p.317-323, 2004.
- GRYNDLER, M.; VOSÁTKA, M.; HRŠELOVÁ, H.; CHVÁTALOVÁ, I.; JANSÁ J. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and cellulose in growth substrate. **Appl Soil Ecol** 19:279–288. 2002.
- JAISHANKAR, M. et al. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary Toxicology**, v.7, n.2, p.60-72, 2014.
- JARSTFER, A. G.; SYLVIA, D. M. Aeroponic culture of AMF. In: VARMA, A.; HOCK, B. **Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology**. Springer Verlag, Berlin, p.427-441, 1995.
- JENKINS, W.R. Arapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v.48, p.692, 1964.
- KHAN, A. G. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.18, p.355–364, 2005.
- NEWMAN, E.J. A method of estimating the total length of root sample. **Journal of Applied Ecology**, v.3, p.139-145, 1966.

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

RADY, M. M.; REHMAN, H. Supplementing organic biostimulants into growing media enhances growth and nutrient uptake of tomato transplants. **Scientia Horticulturae**, v. 203, p. 192–198, 2016.

RAO, A. V.; TAK, R. Growth of diferente tree species and their nutriente uptake in limestone mine spoil as influenced by arbuscular mycorrhizal (AM)- fungi in Indian arid zone. **Journal of Arid Environments**.v. 51, p.113-119, 2002.

REN, J. P. et al. Advances of the toxicology of cadmium. **Acta zoonutrimenta sinica**, v.15, n.1, p.1-6, 2003.

STOHS, S.J.; BAGCHI, D.; HASSOUN, E; BAGCHI, M. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions.**Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v. 19, p. 201–213, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER. I.; M. MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Artmed Editora, 2017.

VODNIK, D.; GRČMAN, H.; MACĚK, I.; VAN ELTEREN, J. T.; KOVAČEVIČ, M. The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. **The Science of the Total Environment**. v.392, p,130–136. 2007.

ZHANG, Z.; LIAO, H.; LUCAS, William J. Molecular mechanisms underlying phosphate sensing, signaling, and adaptation in plants. **Journal of integrative plant biology**, v. 56, n. 3, p. 192-220, 2014.

## 7 CONCLUSÃO GERAL

Embora existam diversos trabalhos que afirmam os efeitos negativos do cádmio na planta de arroz, é necessário a identificação de cultivares tolerantes a este tipo de metal pesado, assim como, estratégias que mitiguem seus danos.

As biotecnologias como os inoculantes micorrízicos e substâncias húmicas, embora conhecidas ainda são pouco utilizadas na agricultura carecendo de mais estudos sobre a potencialização da produtividade agrícola.

Concentrações de 0,05 e 0,1 mM afetaram negativamente o desenvolvimento vegetal da cv. BRS Esmeralda, sendo 0,025 mM a concentração de cádmio máxima tolerável pela cultivar.

Os resultados obtidos confirmam a hipótese da interação benéfica de FMA e SH-Vc sob estresse por cádmio, sendo para a cultura de arroz as doses de 40 e 60 mg L<sup>-1</sup> as que proporcionou incremento de todos os parâmetros estudados, tanto da fração aérea quanto a radicular da planta.

Para a cultura de arroz ficou evidente que o *Glomus* sp melhorou a produção de biomassa e a altura da planta, tendo a melhor interação com a cultivar de arroz BRS Esmeralda. A aplicação combinada de *G. formosanum* e *Glomus* sp com SH tiveram resultados positivos no aumento de matéria fresca e seca e taxa de colonização micorrízica.

Em ambiente sob estresse abiótico por cádmio o *Glomus* sp é o inoculante mais indicado, pois não contribui no aumento da absorção de metal pesado.

As interações das substâncias húmicas extraídas de vermicomposto com os fungos micorrízicos devem ser estudadas com maior profundidade utilizando mais outras espécies de FMAs e outros cultivos, devendo ser acompanhado até o fim do ciclo da cultura, já que a eficiência dessa interação pode ser utilizada como uma alternativa para sistemas de produção orgânica.