

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E FISIOLOGIA DE PLÂNTULAS DE
***Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), CULTIVADAS EM**
SUBSTRATO ÁCIDO NA PRESENÇA DE FERRO E MICORRIZAS

CARLOS MOACIR COLODETE

VILA VELHA
FEVEREIRO/2018

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSSISTEMAS

CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E FISIOLOGIA DE PLÂNTULAS DE
***Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), CULTIVADAS EM**
SUBSTRATO ÁCIDO NA PRESENÇA DE FERRO E MICORRIZAS

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção do grau de Doutor em Ecologia.

CARLOS MOACIR COLODETE

VILA VELHA
FEVEREIRO/2018

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

C718c Colodete, Carlos Moacir.
Crescimento, nutrição e fisiologia de plântulas de *Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), cultivadas em substrato ácido na presença de ferro e micorrizas / Carlos Moacir Colodete. – 2018. 160 f. : il.

Orientador: Carlos Eduardo Tadokoro.
Coorientador: Alessandro Coutinho Ramos.
Coorientadora: Cristina de Vilhena da Cruz Houghton.
Tese (Doutorado em Ecologia Ecossistemas) -
Universidade Vila Velha, 2018.
Inclui bibliografias.

1. Ecologia. 2. Metais. 3. Micorriza vesículo-arbuscular.
I. Tadokoro, Carlos Eduardo. II. Ramos, Alessandro Coutinho.
III. Houghton, Cristina. IV. Universidade Vila Velha. V. Título.

CDD 577

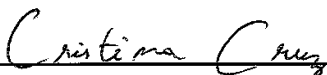
CARLOS MOACIR COLODETE

**CRESCIMENTO, NUTRIÇÃO E FISIOLOGIA DE PLÂNTULAS DE
Schinus terebinthifolius RADDI (1820), CULTIVADAS EM
SUBSTRATO ÁCIDO NA PRESENÇA DE FERRO E MICORRIZAS**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção do grau de Doutor em Ecologia.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2018,

Banca Examinadora:



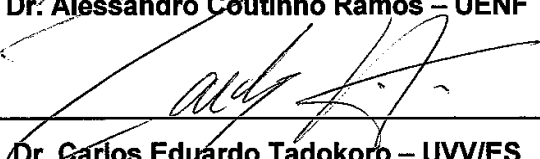
Dra. Cristina Maria Nobre Sobral de Vinhena da Cruz – FCUL



Dr. Leonardo Barros Dobbss – UFVJM



Dr. Alessandro Coutinho Ramos – UENF



Dr. Carlos Eduardo Tadokoro – UVV/ES

Orientador

Dedicatória: Dedico este trabalho à minha esposa
Thamara Pianissola Rossi Colodete, minha filha
Laura Rossi Colodete, tia Neide Rossi Nicoli, Gilce
Helena Pianossola Rossi e Sr. Adelino Rossi.

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito a Deus pela saúde, força e persistência, para que eu pudesse dar o meu melhor neste doutorado.

Ao professor Dr. Carlos Eduardo Tadokoro pela orientação, grande disponibilidade, valiosas conversas, conselhos, apoio essencial no desenvolvimento do doutorado e grandes ensinamentos. Muito obrigado por tudo!!

Ao professor Dr. Alessandro Coutinho Ramos pela orientação, apoio essencial no desenvolvimento deste e de vários outros projetos, ensinamentos, excelentes oportunidades, colaborações, parcerias e experiência científica. Muito obrigado por tudo!!

À professora Dra Cristina Cruz da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa – (FCUL), pela coorientação no Doutorado Sanduíche no Exterior (DSE), excelente recepção, oportunidades, análises laboratoriais, parcerias, ensinamentos e modelo de produtividade/profissionalismo.

Ao Sávio Bastos de Souza, pela grande amizade, parceria, colaboração e muitos ensinamentos de longa data. Obrigado meu amigo!

Aos companheiros da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF): Sávio, Amanda, Antônio, Vívian, Winny, Janiélis, Katherine, Tamires, Lucas e Belinha pela amizade e parceria na condução dos experimentos. Agradeço também todos os componentes de outros laboratórios que utilizei, especialmente do Dr. Eliemar Campostrine para as análises fotossintéticas.

Aos todos do CE3C - Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes da FCUL: Juliana Melo, Paolo Vaglini, Teresa Dias e as professoras Dra Ana Reis e Dra Maria Manuela, dentre outros pela recepção e apoio nas análises laboratoriais.

À Paulo Arantes pela nossa grande e longa amizade, sempre disponível em ajudar, pelas valiosas conversas, conselhos e grandes ensinamentos. Obrigado meu grande amigo!

Ao Enrico, Luis e Daniel, pela oportunidade de estadia em Campos, sempre disponíveis em ajudar, pelas histórias engraçadas e inesquecíveis e grande amizade. Obrigado!

Ao Dr. Sydney Luiz Stürmer através da Coleção internacional de culturas de Glomeromycota – (CICG), pela gentileza ao ceder o inóculo micorrízico.

Ao Dr. Leonardo Barros Dobbbs, que desde o início do meu doutoramento, vem auxiliando-me na pesquisa, trabalhos de campo, concedendo oportunidades, análises laboratoriais e ensinamentos valiosos.

A minha esposa Thamara Pianissola Rossi Colodete pela compreensão, amizade, apoio, conselhos, “muita paciência e amor”, pois sempre que precisei foste incondicional.

À miha filha Laura Rossi Colodete por ser minha “inspiração de vida e amor”, sempre ensinando-me a crescer como pai e ser humano. “Amo você até na estrela e volta!”

À Gilce e Ademilson, por ensinar-me o que significado de família, dedicação, apoio incondicional, incentivo, compreensão e amor que sempre me foi dado.

À tia Neide Rossi Nicoli, por ser este anjo, pelo pleno amor, orientações, incentivo e exemplo pessoal e profissional em minha vida, pelos momentos de alegria e descontração, por me colocar em suas orações, por torcer para que eu atinja todos os meus objetivos e acima de tudo, pela sua presença quando mais precisei.

Ao Sr. Adelino Rossi, pelo seu incontestável exemplo de vida e família, honestidade, pai, avô e bisavô. Descanse em paz lá no céu e cuide sempre de nós!!

À todos da família Rossi pelo amor e apoio, sendo sempre solícitos em todos os momentos e projetos de vida.

Aos colegas do Doutorado e companheiros do Laboratório de Imunobiologia (LIB) da Universidade Vila Velha (UVV).

Aos Dr. Leonardo Barros Dobbss, Dr. Alessandro Coutinho Ramos e Dra Amanda Azevedo Bertolazi, por terem aceitado o convite na participação da minha Qualificação de doutorado.

Aos professores Dr. Alessandro Coutinho Ramos, Dr. Leonardo Barros Dobbss e Dra. Cristina Cruz, por aceitarem o convite para participarem da banca de defesa da Tese doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro, pois sem esse apoio a execução deste projeto não seria possível. Muito Obrigado!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas (PPGEE) e à Universidade Vila Velha (UVV) pelo suporte no doutoramento.

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	14
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	16
1.1 REFERÊNCIAS.....	18
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	20
CAPÍTULO I: Crescimento, nutrição e fisiologia de plântulas de <i>Schinus terebinthifolius</i> RADDI (1820), cultivadas em substrato ácido na presença de ferro e micorrizas.....	29
1.RESUMO.....	29
2. ABSTRACT.....	31
3.INTRODUÇÃO.....	33
4.MATERIAL E MÉTODOS.....	35
5.RESULTADOS.....	42
6.DISSCUSSÃO.....	65
7.CONCLUSÃO.....	73
8. REFERÊNCIAS.....	74
9. ANEXOS.....	85

CAPÍTULO II: Uso combinado do silício e micorriza no alívio da fitotoxidez por ferro em substrato ácido nas plântulas de *Eucalyptus urograndis* sobre o crescimento, ionoma e fisiologia.....

99

1.RESUMO..... 99

2. ABSTRACT..... 102

3.INTRODUÇÃO..... 104

4.MATERIAL E MÉTODOS..... 106

5.RESULTADOS..... 111

6.DISSCUSSÃO..... 133

7.CONCLUSÃO..... 137

8. REFERÊNCIAS..... 139

9. ANEXOS..... 145

LISTA DE ABREVIATURAS

FMA – Fungos micorrízicos arbusculares;

FeSO₄ – Sulfato ferroso;

Fe – Ferro;

Aroeira – *Schinus terebinthifolius* RADDI, 1820 (Sapindales: Anacardiaceae Lindley, 1830);

Eucalipto – *Eucalyptus urograndis*;

Si – Silício;

K₂SiO₃.H₂O – Silicato de potássio;

FI – Força iônica;

SO₂-Dióxido de enxofre;

PEPCV - Parque Estadual Paulo César Vinha;

SCT101A –*Claroideoglossum entunicatum* (Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schussler;

CICG - Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota;

DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado;

UENF - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro;

RJ - Rio de Janeiro;

UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro;

MO-Matéria orgânica; SB-Soma das bases; m-Saturação de alumínio; V-Saturação das bases. PPM - Partes por milhão; cmol_c dm⁻³ – miliequivalente, MT-Média total e DP-Desvio padrão;

Eq.(1) – Equação 1;

Eq.(2) – Equação 2;

MS_{total} - Massa seca total;

MSPA – Massa seca da parte aérea;

MSR – Massa seca da raiz;

IQD - Índice de Qualidade de Dickson;

MST - Massa seca total;

A - Altura da planta até a gema apical;

DC - Diâmetro do caule;

A - Assimilação líquida de carbono;

gs - Condutância estomática ao vapor de água;

E - Taxa transpiratória;

iWUE - Eficiência intrínseca do uso da água;

A/Ci - Eficiência carboxilação;

Ci/Ca - Razão entre a concentração de CO₂ interna da folha e concentração de CO₂ do ar em torno da folha;

Fv/Fm - Rendimento quântico máximo do PSII;

PI - Índice fotossintético;

IRGA - Analisador de gás a infravermelho;

SPAD-502 - Medidor portátil de clorofila;

Pocket PEA – Fluorímetro;

JIP-teste - Fluorescência da clorofila e parâmetros biofísicos que quantificam o fluxo de energia através do PSII;

Fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), silício (Si), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu), boro (B), sódio (Na), zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), molibdênio (Mo), alumínio (Al), berílio (Be), bismuto (Bi), cádmio (Cd), crômio (Cr), lítio (Li), chumbo (Pb), rubídio (Rb), selênio (Se), estrôncio (Sr), titânio (Ti), tálio (Tl) e vanádio (V);

ICP-OES ICAP 6500 DUO - espectrometria de plasma da marca Shimadzu,

VES – Vesículas; APPR - apressório; IH - hifa interna; EH - hifa externa; SPO - esporos e (*) - Arbúsculo e AH - hifa absorvitiva;

DM - Dependência micorrízica;

ANOVA -Análises de variância;

PCA - Análise multivariada de componentes principais.

RESUMO

COLODETE, CARLOS MOACIR. Universidade Vila Velha - ES, 22 de Fevereiro de 2018. **Crescimento, nutrição e fisiologia de plântulas de *Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), cultivadas em substrato ácido na presença de ferro e micorrizas.** Orientador Brasileiro: Dr. Carlos Eduardo Tadokoro (UVV). Coorientador Brasileiro: Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UENF). Coorientador Estrangeiro: Dra. Cristina Maria Nobre Sobral de Vilhena da Cruz Houghton (FCUL).

A expansão no número de usinas do setor de mineração de ferro em áreas de restinga no litoral do Espírito Santo (ES) é crescente, podendo comprometer a sobrevivência das plantas próximas a fontes poluidoras. A hipótese do primeiro experimento (Capítulo I), foi que a sensibilidade fisiológica da *Schinus terebinthifolius* RADDI frente a toxicidade por ferro (Fe), seria atenuada quando inoculados com fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em substrato ácido. A hipótese deste trabalho foi aceita. Nossos resultados revelaram que nas raízes da aroeira submetidas a 2 mM de sulfato ferroso (FeSO_4), foram observados reduções na taxa de colonização micorrízica, na dependência e estruturas dos FMA. *S. terebinthifolius* RADDI mostrou ser altamente dependente da micorrização e quando não micorrizadas, expostas a 2 mM FeSO_4 , apresentaram bronzeamento foliar. Plântulas micorrizadas aumentaram os parâmetros de crescimento, quando foram submetidas a 2 mM FeSO_4 . Os teores de Fe na parte aérea de plântulas micorrizadas do tratamento Controle e 2 mM FeSO_4 , foram inferiores se comparados aos das raízes. Os parâmetros fisiológicos foram maiores quando os tratamentos Controle e 2 mM Fe foram micorrizados. Além disso, o rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) dos tratamentos Controle e 2 mM Fe micorrizados, foram acima dos indicadores do estresse fisiológico. A hipótese do segundo experimento (Capítulo II) foi que o uso combinado do silício (Si) derivado do silicato de potássio ($\text{K}_2\text{SiO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e FMA, aliviarão a fitotoxidez por Fe em baixo pH

no substrato em plântulas de *Eucalyptus urograndis*. Nossos resultados demonstraram que a hipótese do presente estudo foi aceita. *E. urograndis* micorrizadas do tratamento (6Fe + 1,5 Si) aumentaram os parâmetros de crescimento, como Índice de Qualidade Dickson (IQD), tamanho foliar e fortalecimento do caule. De fato, *Claroideoglossum entunicatum* pode “ampliar” a aliviação dos efeitos tóxicos do Fe nas raízes das plantas hospedeiras. Foram encontrados maiores teores Si em todos tratamentos micorrizados. O tratamento (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados, foram maiores nos teores na parte aérea para N, P, Ca e Mg comparando-se ao controle não micorrizado. *E. urograndis* não micorrizadas se comparadas ao controle, foram maiores para o Índice SPAD (1,5 Si e 6 Fe + 1,5 Si). Foram observados reduções drásticas no teor de Fe na parte aérea (4473,68 mg Kg⁻¹), se comparados ao sistema radicular (117,82 mg Kg⁻¹) nos tratamentos (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados. Respostas similares neste experimento ocorreram na parte aérea com outros metais, tais como Cu (7,25 mg Kg⁻¹), Zn (30,94 mg Kg⁻¹), Al (105,29 mg Kg⁻¹), Se (3,79 mg Kg⁻¹) e Ni (1,29 mg Kg⁻¹), quando comparados ao sistema radicular para Cu (16,00 mg Kg⁻¹), Zn (130,23 mg Kg⁻¹), Al (27,01,67 mg Kg⁻¹), Se (20,20 mg Kg⁻¹) e Ni (4,54 mg Kg⁻¹) nos tratamentos (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados, respectivamente. Os resultados fisiológicos, mostraram que plântulas de *E. urograndis* dos tratamentos (6Fe + 1,5 Si) aumentaram os parâmetros de A, iWUE, A/Ci, Ci/Ca. Foram observados declínios no PSII (Fv/Fm) no tratamento (6mM Fe) não micorrizado e nos outros tratamentos não micorrizados e micorrizados, valores acima dos indicadores de estresse. Na fase bioquímica aumentou a eficiência carboxilação (A/Ci), indicando melhoras na atividade ou no teor da Rubisco. Portanto, a associação Si-FMA de fato, constitui um modelo-chave na redução dos efeitos negativos do Fe em plântulas de eucalipto.

Palavras chaves: Plântula nativa e exótica, metal pesado, micorriza arbuscular, mitigação do estresse.

ABSTRACT

COLODETE, CARLOS MOACIR. University of Vila Velha – ES, February 22, 2018.
Growth, nutrition and physiology of seedlings of *Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), grown on acid substrates in the presence of iron and mycorrhizae.
 Brazilian Advisor: Dr. Carlos Eduardo Tadokoro (UVV), Brazilian Co-advisor: Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UENF) and Foreign Co-advisor: Dra. Cristina Maria Nobre Sobral de Vilhena da Cruz Houghton (FCUL).

The expansion of the number of mills in the iron ore mining sector in restinga areas on the coast of Espírito Santo (ES) is increasing and may compromise the survival of plants near the polluting source. The first hypothesis of the experiment was that the physiological sensibility of the *Schinus terebinthifolius* RADDI against iron (Fe) toxicity would attenuate when inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on acid substrates. Our results showed that the hypothesis of the first study was accepted. Reductions in colonization, dependence and fungal structures were observed in roots submitted to 2 mM ferrous sulfate (FeSO_4). The *S. terebinthifolius* RADDI showed to be highly dependent on the mycorrhization and that when not mycorrhized and exposed to 2 mM FeSO_4 , they presented leaf tanning. Mycorrhizal seedlings increased growth parameters when submitted to 2 mM FeSO_4 . The Fe content in the aerial part of mycorrhizal seedlings of the Control treatment and 2 mM FeSO_4 , were lower when compared to the roots. The physiological parameters were higher when the Control and 2 mM Fe treatments were mycorrhizal. The Fv/Fm ratio of the Control treatments and mycorrhizal 2 mM Fe were above the stress indicators. The second hypothesis of the experiment was that the combined use of silicon (Si) derived from potassium silicate ($\text{K}_2\text{SiO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) and AMF alleviate the phytotoxicity of Fe in *Eucalyptus urograndis* at low pH on the substrate. Our results demonstrated that the hypothesis of the present study was accepted. Mycorrhizal *E. urograndis* (6Fe + 1,5 Si) increased

the growth parameters: Dickson Quality Index (DQI), leaf size and stem strengthening and that *Claroideoglomus entunicatum* can "amplify" the aliveness of the toxic effects of Fe in the roots of host plants. Higher Si levels were found in all mycorrhizal treatments. The treatments (6 Fe + 1,5 Si) mycorrhizal were higher in the contents in the aerial part for N, P, Ca and Mg compared to non-mycorrhizal Control. Non-mycorrhizal *E. urograndis* seedlings were higher for the SPAD Index (1.5 Si and 6 Fe + 1.5 Si) compared to the control. There were drastic reductions in Fe content in the aerial part (4473.68 mg kg⁻¹), compared to the root system (117.82 mg kg⁻¹) in mycorrhized treatments (6 Fe + 1,5 Si). Similar responses occurred in the aerial part for other metals such as Cu (7.25 mg kg⁻¹), Zn (30.94 mg kg⁻¹), Al (105.29 mg kg⁻¹), Se (3.79 mg kg⁻¹) and Ni (1.29 mg kg⁻¹), when compared to the root system for Cu (16.00 mg kg⁻¹), Zn (130,23 mg kg⁻¹), Al (27,01,67 mg kg⁻¹), Se (20.20 mg kg⁻¹) and Ni (4.54 mg kg⁻¹) in the mycorrhized treatments (6 Fe + 1,5 Si), respectively. Physiological results showed that seedlings of the treatments (6Fe + 1,5 Si) increased A, iWUE, A/Ci, Ci/Ca. A decline in PSII (Fv/Fm) was observed in non-mycorrhized 6mM Fe treatment and in the other non-mycorrhized and mycorrhizal treatments, values above the indicators. In the biochemical phase it increased to A/Ci, indicating improvements in the activity or content of Rubisco. Therefore, the association of Si-FMA in fact constitutes a key model in reducing the negative effects of Fe on eucalyptus seedlings.

Keywords: Native and exotic seedling, heavy metal, arbuscular mycorrhiza, stress mitigation.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A crescente expansão do número de usinas no setor de mineração e beneficiamento de minério de ferro em áreas de restinga no litoral do ES (Pereira et al., 2009), são responsáveis pela emissão de poluentes atmosféricos que podem comprometer a sobrevivência de espécies vegetais próximos a fonte poluidora (Kuki et al., 2008).

O Fe é um dos elementos abundantes no solo e um dos principais poluentes emitidos pelas atividades de mineração e beneficiamento de minério (Neves et al., 2009). Quando o Fe é ressuspenso na atmosfera, se acumula na vegetação (Grantz et al., 2003) e solo (Clemens et al., 2013), causando efeitos negativos nos vegetais (Lopes et al., 2000). A acidez do solo causada por chuvas ácidas, torna o Fe altamente disponível a absorção na raiz (Hell & Stephan 2003), podendo levar seu acúmulo a níveis fitotóxicos tanto em espécies nativas como *S. terebinthifolius* RADDI (Anarcadiaceae), como em exóticas como a *E. urograndis* (Lopes et al., 2000).

Em plantas superiores, o excesso de Fe pode causar danos ecofisiológicos e vários distúrbios nutricionais (Grantz et al., 2003), e dependendo da magnitude do impacto, da intensidade e frequência das exposição, bem como da susceptibilidade e estágio de desenvolvimento das espécies vegetais, podem reduzir ou até eliminá-las de ecossistemas próximos às fontes poluidoras (Lopes et al., 2000).

Espécies nativas podem ser utilizadas como biomonitores na avaliação de impactos ambientais. *S. terebinthifolius* RADDI colonizam grande faixa da restinga do ES e sob condições de estresse, especialmente por Fe, mostraram alta sensibilidade fisiológica (Araújo & Lacerda 1987).

Espécies exóticas como a *E. urograndis* têm sido constantemente impactadas pelos efeitos do Fe, sendo estas localizadas nas regiões próximas a fonte poluidora (Pugh et al., 2002). Vale ressaltar a importância desta espécie no setor florestal brasileiro e especialmente a capixaba em termos econômicos, sociais e ambientais, a partir da verificação dos principais indicadores: área florestal plantada, valor bruto de produção, geração de impostos, valor das exportações e geração de muitos empregos diretos e indiretos (Chichorro et al., 2017).

Nesse contexto, o primeiro experimento desta tese (Capítulo I), são utilizados FMA como alternativa de preservar espécies vegetais nativas suscetíveis ao Fe como a *S. terebinthifolius* RADDI, mitigando os efeitos negativos deste metal nos

ecossistemas. Sabe-se que os FMA conferem à planta hospedeira um efeito fitoprotetor aos níveis de toxidez por Fe, imobilizando-os no solo e impedindo que sejam translocados da raiz para parte aérea (Göhre & Paszkowski 2006).

O segundo experimento da tese (Capítulo II), trabalha com espécies florestais socioeconomicamente importantes, como *E. urograndis* que estão localizadas em regiões costeiras no ES sob forte influência das atividades de processamento de minério de Fe. De forma inovadora, associamos Si e os FMA, como modelo-chave na redução dos efeitos negativos do Fe sobre plantas (Frew et al., 2017). É amplamente aceito que o Si é benéfico no crescimento das plantas e no alívio do estresse de metais pesados (Ma & Yamaji 2015), incluindo o Fe^{2+} (Fu et al., 2012), além FMA (Göhre & Paszkowski 2006).

A grande relevância deste trabalho decorre do fato que até o presente momento nenhum estudo abordou aspectos ecofisiológicos em espécies nativas e exóticas, objetivado reduzir os efeitos negativos do Fe, utilizando micorrizas em aroeira (nativa) ou uso combinado do silício-FMA em substrato ácido no eucalipto (exótica).

Com base no exposto, a hipótese primeiro experimento (Capítulo I), é que a sensibilidade fisiológica da *S. terebinthifolius* RADDI frente a toxicidade por Fe é atenuada quando inoculadas com FMA em substrato ácido. Para o segundo experimento (Capítulo II), o uso combinado do Si-FMA aliviam a fitotoxidez do Fe no *E. urograndis* em baixo pH.

1.1 REFERÊNCIAS

(De acordo com as normas da Mycorrhiza jornal - ISSN: 0940-6360)

- Araujo, DSD, Lacerda LD (1987) A Natureza das Restingas. *Ciência Hoje* 6(33):42-48.
- Chichorro JF, da Silva ALP, Andrade WSP, Hegedus CEN, Kuboyama FAQ (2017) Custos e índices econômicos de povoamentos de eucalipto do Programa Produtor Florestal no Espírito Santo. *Pesq. Flor. Bras*, 92:447-456.
- Clemens S, Aarts M, Thomine S, Verbruggen N (2013) Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends Plant Science* 18:92-99.
- Frew A, Powell L, Sallam N, Johnson N Arbuscular mycorrhizal fungi promote silicon accumulation in plant roots, reducing the impacts of root herbivory (2017) *Plant Soil* 23:34-45.
- Fu YK, Shen H, Wu WM, Cai KZ (2012) Silicon mediated amelioration of FeII toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Pedosphere* 22(6):795–802.
- Göhre V, Paszkowski U (2006) Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223:1115-1123.
- Grantz DA, Garnerb JHB, Johnson DW (2003) Ecological effects of particulate matter. *Environment International* 29:213–239.
- Hell R, Stephan W (2003) Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants 216: 541–551.
- Kuki KN, Oliva MA, Pereira EG, Costa AC, Cambraia J (2008) Effects of simulated deposition of acid mist and iron ore particulate matter on photosynthesis and the generation of oxidative stress in *Schinus terebinthifolius* RADII and *Sophora tomentosa* L. *Science of Total Environment* 403:207-214.
- Kuki KN, Oliva MA, Pereira EG, Costa AC, Cambraia J (2008) Iron ore industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation, *Environ Manage* 42:111-121.
- Lopes AS, Oliva MA, Martinez CA (2000) Impacto das emissões de dióxido de enxofre e deposição de material particulado de ferro em espécies vegetais de restinga: avaliação ecofisiológica. In: *Ecotoxicologia - Perspectivas para o século XXI*. Espíndola, ELG, Paschoal CMR, Rocha O, Bohrer MBC, Oliveira Neto, A.L. (eds), RiMa Artes e Textos, São Carlos p 53-71.
- Ma JF & Yamaji N (2015) A cooperated system of silicon transport in plants. *Trends in Plant Science* 20, 435–442.
- Neves NR, Oliva MA, Centeno DC, Costa AC, Ribas RF, Pereira EG (2009) Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: Potential use in

environmental risk assessment. Science of The Total Environment 407:3740-3745.

Pereira EG, Oliva MA, Kuki, K, Cambraia J (2009) Photosynthetic changes and oxidative stress caused by iron ore dust deposition in the tropical CAM tree *Clusia hilariana*. Trees-Springer 23:277–285.

Pugh RE, Dick DG, Fredeen AL (2002) Heavy Metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) Contents of Plant Foliage near the Anvil Range Lead/Zinc Mine, Faro, Yukon Territory. Ecotoxicology and Environmental Safety 52:273-279.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Importância do Fe nas plantas e o crescente número de usinas no setor de mineração

O Fe é um micronutriente importante para as plantas, estando envolvido em processos fundamentais como fotossíntese, respiração, metabolismo do nitrogênio e transporte de elétrons (Becana et al., 1998). Geralmente é encontrado em associação com moléculas maiores, como citocromos, clorofila e proteínas. Algumas de suas funções se devem a sua capacidade de atuar em reações redox reversíveis entre os íons ferroso (Fe^{2+}) e férrico (Fe^{3+}) (Becana et al., 1998), conforme (Figura 1).

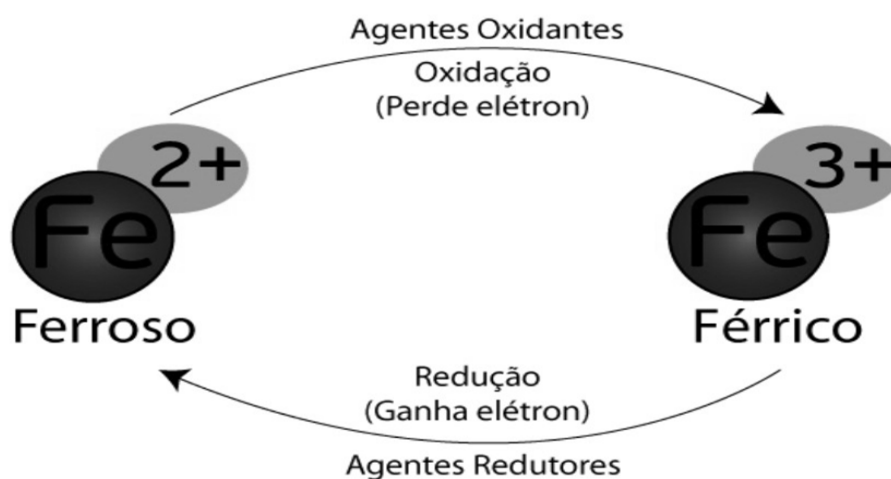


Figura 1. Principais reações redox entre os íons ferroso (Fe^{2+}) e férrico (Fe^{3+}). Adaptado de Becana et al., (1998).

Abundante na crosta terrestre, o Fe presente no solo está em sua maior parte na forma Fe^{3+} , que não é prontamente absorvido pelas plantas (Fageria et al., 1990). Em condições normais, o teor de Fe nas plantas varia de 0,05 a 0,25 mg g^{-1} de massa seca (Marschner 1995). Entretanto, sob altas concentrações este elemento torna-se fitotóxico (Pugh et al., 2002).

O crescente número de usinas do setor de mineração e beneficiamento de Fe, pode constituir um risco ambiental para espécies vegetais estabelecidas em fragmentos próximos das fontes poluidoras, lançando assim nestas áreas uma considerável quantidade de Fe (Schiavo 2005). Mas a magnitude do impacto com Fe, dependerá das características da intensidade e frequência das deposições, bem como

sua susceptibilidade e estágio de desenvolvimento dos organismos afetados. Sabe-se, que os efeitos desta forma de poluição podem atingir patamares suficientes para causar modificações na estrutura das comunidades vegetais expostas (Wong et al., 1978).

***S. terebinthifolius*, localização e o teor de ferro nos solos próximos da fonte poluidora**

A *S. terebinthifolius* é uma espécie vegetal nativa do ecossistema restinga e regionalmente conhecida como aroeira, sendo encontrada principalmente no Parque Estadual Paulo César Vinha (PEPCV), localizada no município de Guarapari-ES (Machado & Carmello-Guerreiro et al., 2001), nas coordenadas geográficas 20°40'00" S e 40°29'51" W e próximo da fonte poluidora: Samarco Mineradora S.A., localizada em Anchieta-ES com coordenadas S 20°46'16.7" e 40°34'30.9" W, conforme (Figura 2).

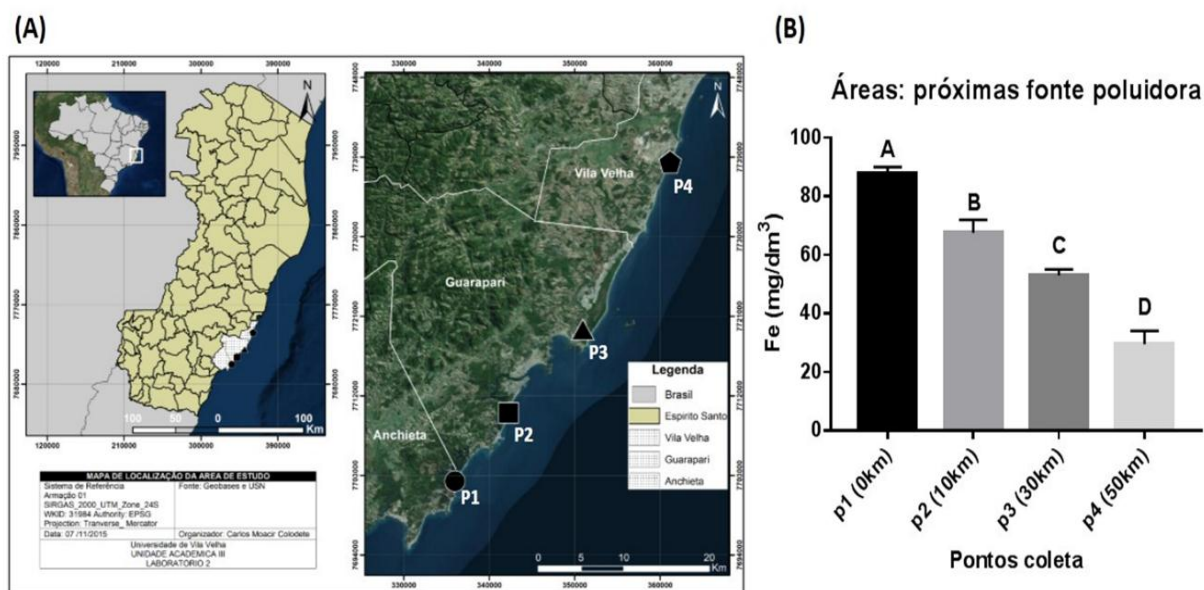


Figura 2. (A) Mapa das áreas contaminadas por Fe próximas da mineradora no ES, sendo o ponto 1 (P1) Samarco Mineradora S.A. (Fonte poluidora), localizada no município de Anchieta-ES, considerada como ponto inicial 0Km; (P2) Meaípe, localizada no município de Grarapari-ES, a 10km da fonte poluidora; (P3) Parque Estadual Paulo César Vinha (PEPCV), localizada no município de Guarapari-ES, a 30 Km da fonte poluidora; (P4) Praia dos Recifes, localizada no município de Vila Velha-ES, a 50 km da fonte poluidora. (B) Teor de Fe (mg/dm³) dos solos *in situ* coletados na profundidade 0-40 cm das áreas próximas a fonte poluidora (P1/P2/P3/P4),

respectivamente. (Imagem (A): Carlos Moacir Colodete; Figura (B): GraphPad Prism 7.0).

Ecologicamente a aroeira é considerada pioneira, heliófila e perenifólia (Lorenzi 1992; Machado & Carmello-Guerreiro et al., 2001). Socioeconomicamente, é importante pelos atributos medicinais e alimentares (Guerra et al., 2000). Mostra-se importante ao biomonitoramento *in situ*, pela sua sensibilidade fisiológica dependente do nível de estresse Fe em que são submetidas (Lopes et al., 2000; Oliveira et al., 2007; Kuki et al., 2009).

Expansão das mineradoras de Fe e seu impacto no ecossistema restinga no ES

O Brasil é o segundo maior produtor minério Fe no mundo (Ibram, 2011). No ES foi observado um expressivo aumento no número de usinas setor de mineração e beneficiamento de Fe, principalmente sobre ecossistema costeiro de restinga (Pereira 1990; Kuki et al., 2008, 2009). Além disso, as atividades destas mineradoras, como armazenamento, transporte, manuseio de insumos, queima de combustíveis fósseis (Lopes et al., 2000), geram poluentes atmosféricos como Fe, óxido de enxofre e óxido de nitrogênio (Lopes et al., 2000; Silva et al., 2015), levando a impactos negativos sem precedentes aos ecossistemas. Além disso, estes óxidos na atmosfera, reagem potencialmente com vapor de água, e formam ácidos fortes, que se precipitam na forma de chuva ácida (Grantz et al., 2003; Kuki et al., 2008). A acidez causada pela chuva ácida, alteram não apenas os ecossistemas (Lopes et al., 2000; Koki et al., 2008) mas as propriedades químicas e físicas solo, indisponibilizando nutrientes minerais para as plantas (Monni et al., 2001; Krohling et al., 2016). Além disso, Fe no solo em pH ácido, desencadeiam reações redução do ferro, que podem potencializar sua solubilização, fitotoxicidade a partir de distúrbios ecofisiológicos e nutricionais nas plantas (Hell & Stephan 2003).

Alterações ecofisiológicas e nutricionais em plantas de restinga submetidas ao Fe

Sabe-se que fisiologicamente, plantas submetidas ao estresse por Fe podem comprometer a respiração e a fotossíntese, por exemplo na assimilação líquida de carbono, condutância estomática ao vapor de água, taxa transpiratória, eficiência intrínseca do uso da água, eficiência carboxilação, razão entre a concentração de CO₂

interna da folha e concentração de CO₂ do ar em torno da folha, o rendimento quântico máximo do PSII e o índice fotossintético (Grantz et al., 2003; Silva et al., 2015), além de parâmetros morfológicos, como o aparecimento do bronzeamento foliar (Jucoski et al., 2013;2016) e distúrbios nutricionais (Araújo et al., 2014).

Nesse contexto, Lopes et al., (2000) avaliaram a extensão geográfica e a ação de poluentes, sobre a ecofisiologia de três espécies vegetais de restinga: a *Sophora tomentosa*, *Rheedia brasiliensis* e *Myrtaceae* sp. Essas plantas foram submetidas aos efeitos das emissões de dióxido de enxofre (SO₂) e ao Fe nas diferentes distâncias: 200, 500, 800, 1400 e 1700 metros (m) da fonte emissora (Mineradora de Fe), expostas em condições de sombreamento ou não. Estas espécies apresentaram amplo espectro de sensibilidade e capacidade de acúmulo de íon sulfato e Fe. *S. tomentosa*, foi mais resistente que *R. brasiliensis* e *Myrtaceae* sp. Estas últimas apresentaram uma intensa manifestação de danos visuais tais como bronzeamento foliar e manchas necróticas. Os indicadores de estresse nas plantas foram: diminuição da taxa fotossíntese líquida (*S.tomentosa* – 6,95 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; *Myrtaceae* – 1,94 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; *R. brasiliensis* 2,23 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), condutância estomática, aumento da temperatura foliar e maior acúmulo de Fe e enxofre nos tecidos vegetais. Os efeitos foram críticos à distância de 800 m para SO₂ e às distâncias de 200 e 1400 m para os materiais particulados de Fe. As alterações morfológicas e fisiológicas decorrentes das emissões foram mais intensas em plântulas expostas sem sombreamento. O estresse por Fe a 200 m causou um significativo aumento de temperatura foliar.

Kuki et al., (2008) associaram o estresse do Fe à deposição simulada da chuva ácida em câmara acrílica na casa-de-vegetação de duas espécies vegetais de restinga *S. terebinthifolius* e *Sophora tomentosa* L. sob parâmetros ecofisiológicos e bioquímicos por 30 dias. Os tratamentos consistiram em névoa neutra (controle) [água (pH 6,7)], névoa neutra [água (pH 6,7)] + Fe, névoa ácida [solução diluída de ácido sulfúrico (pH 3,0)] e névoa ácida [solução diluída de ácido sulfúrico (pH 3,0)] + Fe. De modo geral os tratamentos submetidos ao estresse Fe em pH ácido foram capazes de induzir estresse oxidativo, reduziu o clorofilas totais ($0,65\text{e}^{-01} \mu\text{g mm}^{-2}$) a eficiência quântica máxima de PSII (Fv/Fm) ($0,19\text{e}^{-01}$) e a taxa de transporte de elétrons ($1995,85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em *S. terebinthifolius*, mostrando maior sensibilidade fisiológica aos tratamentos. Plantas de *S. tomentosa*, que se expôs a acidose, reduziu A, enquanto a de partículas de Fe levou ao aumento no taxa de transporte de elétrons ($255,912 \mu\text{g g DW}^{-1}$) e na permeabilidade da membrana (48,25 %). As atividades de enzimas antioxidantes, como catalase e superóxido dismutase, foram maiores em *S.*

tomentosa e menores em *S. terebinthifolius*. Estes autores sugerem que as duas espécies de restinga utilizaram-se de estratégias distintas para superar as condições estressantes criadas pelo Fe. A *S. terebinthifolius* mostraram-se sensíveis aos tratamentos e *S. tomentosa* usou mais as enzimas antioxidantes para neutralizar o estresse oxidativo. Os resultados apontam que a *S. terebinthifolius* pode ser indicada como espécie de biomarcadora em condições de campo, pela maior sensibilidade fisiológica ao Fe.

Oliveira et al., (2007) avaliando o efeito do Fe no teor de pigmentos fotossintetizantes como (clorofila a, b e carotenoides) nas folhas da *S. terebinthifolius*, concluíram que esta espécie vegetal pode ser viável para o biomonitoramento em áreas de restinga próximos a fonte poluidora Samarco Mineradora S.A., localizada em Anchieta-ES, devido às modulações nos pigmentos de clorofila, comparados ao controle sem estresse por Fe e sendo assim considerada uma espécie sensível a esse elemento-traço.

O papel dos FMA em plantas hospedeiras submetidas aos estresse de metais pesados

Microrganismos simbiossiontes, especialmente os FMA, possibilitam não apenas a aliviação mas permanência das plantas hospedeiras em áreas contaminadas por metais pesados. Sua eficiência depende da relação fungo-planta-metal (Smith & Read 2008). Os FMA são microrganismos naturais do solo (Smith & Read 2008), no entanto, a alta disponibilidade de metais tal como o Fe^{2+} em pH ácido nos solos, podem causar perdas na taxa de colonização (Yang et al., 2015; He et al., 2007) como relatado para gênero *Claroideoglomus* (Davies et al., 2002; Liao et al., 2003; Lu et al., 2015).

Os FMA contribuem na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados, podendo auxiliar positivamente espécies vegetais sensíveis, seja pela fitoextração e/ou fitoestabilização (Khan et al., 2000; Rillig 2004; Ferrol et al., 2016). Variados estudos demonstram a eficiência micorrízica reduzindo os efeitos negativos das plantas submetidas ao estresse por metais pesados (Bi et al., 2003; Beltrano et al., 2013; Bati et al., 2015), tornando-as tolerantes (Miransari 2017).

O papel micorrizas sobre plantas hospedeiras são amplamente reconhecidas, como aumento absorção nutrientes minerais solo [(notadamente o fósforo (P)) por hifas fúngicas que funcionam como extensão do sistema radicular (Marschner & Dell 1994; Clark & Zeto 2000; Davies et al., 2002; Liao et al., 2003; Alizadeh 2012),

suprimento hídrico (Augé 2001; Ruiz-Lozano & Aroca 2010; Birhane et al., 2012; Santander et al., 2017), crescimento (Jasper et al., 1988; Davies et al., 2002; Liao et al., 2003; Lu et al., 2015), clorofila (Bhattacharjee & Sharma 2012), fotossíntese (Davies et al., 2002; Beltrano et al., 2013), biomassa (Solís-Domínguez et al., 2012) e transferência elétrons PSII-I (Shamshiri & Fattahi 2016). Por outro lado, um efeito direto do excesso do Fe sobre os FMA é na inibição da germinação de esporos, desenvolvimento de hifas e números de arbúsculos, que pode atrasar ou inibir a formação e colonização micorrízica nas raízes de plantas hospedeiras (Yang et al., 2015).

FMA desenvolveram mecanismos distintos frente ao estresse de Fe (Ferrol et al., 2016; Göhre & Paszkowski 2006). É sugerido que a glomalina, uma glicoproteína sintetizada por hifas de FMA, tenha função quelante de metais, diminuindo disponibilidade em plantas hospedeiras (Zhu 2001). Nesse sentido, torna-se fundamental o entendimento da imobilização de metais via biomassa fúngica como um mecanismo eficiente na tolerância de metais pesados em plantas hospedeiras, conforme (Figura 3).

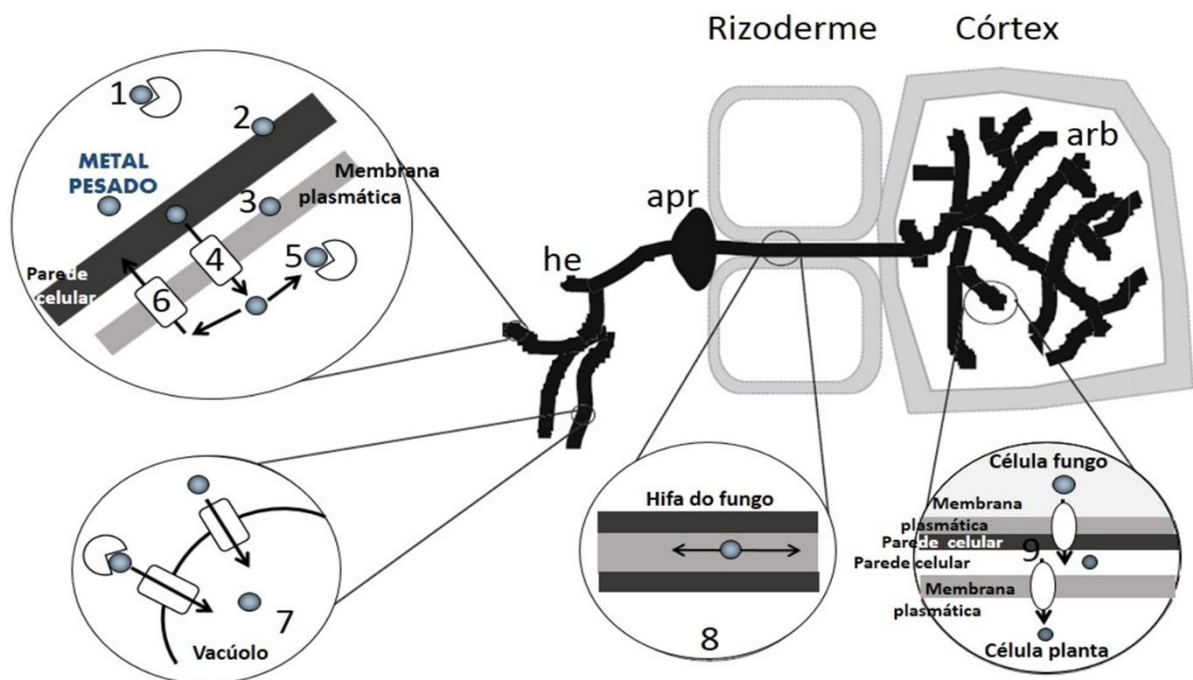


Figura 3. Resumo dos potenciais mecanismos de desintoxicação dos metais pesados em uma célula fúngica: (1) hifas externas (he) dos FMA que secretam moléculas quelatantes (glomalina e metalotianina) (rizosfera/rizoplasma); (2) parede celular atuando como barreira física; (3) diminuição do influxo de metais através da membrana plasmática; (4) transportadores específicos ou não de membrana plasmática

(ativo/passivo); (5) quelação no citosol; (6) efluxo de metais via transportadores específicos; (7) acumulação dos metais no vacúolo; (8) transporte do metal por hifa dos FMA; (8) importação reduzida ou não tóxica (aliviação) de metais via arbúsculo (arb) para a célula vegetal. Adaptado de Göhre & Paszkowski (2006).

A partir dos potenciais mecanismos de desintoxicação dos metais pesados em uma célula fúngica, conforme (Figura 3), pode-se inferir que a micorrização pode não apenas minorar a toxidez por metais pesados, mas melhorar o crescimento das plantas. Isso já foi demonstrado por Klauberg-Filho (1999) avaliando a eficiência simbiótica de diferentes isolados de FMA no qual promoveu o crescimento da parte aérea de *Panicum maximum* em relação ao tratamento não inoculado. Esses mesmos autores observaram que a inoculação de *Glomus clarum* e *Scutellospora fulgida*, oriundos de área contaminada com metais pesados, apresentaram maior eficiência, aumentando assim a produção de massa seca de *P. maximum* em 47% a 31% respectivamente. Respostas semelhantes foram obtidas em espécies arbóreas por Siqueira et al., (1999a), os quais verificaram que apesar dos decréscimos acentuados nos valores de colonização FMA, houve favorecimento no crescimento das espécies *Senna multijuga*, *Luehea grandiflora*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Albizia lebbbeck* e *Senna macranthera* de solos que continham concentrações de metais como zinco (Zn); cádmio (Cd); chumbo (Pb) e cobre (Cu).

De forma similar, Liu et al., (2002) mostraram que a biomassa de plantas micorrizadas de tomate aumentou em 30% em comparação com não micorrizadas, frente ao aumento da concentração de arsênico (As) no solo. Ruscitti et al., (2011) testaram se a inoculação com FMA aumentava a tolerância ao crômio (Cr), pelo crescimento, parâmetros bioquímicos e o efeito sobre as membranas das raízes em *Capsicum annum*. Tais plantas foram inoculadas ou não com *Glomus mosseae*/ *Glomus intraradices* na presença de diferentes concentrações de cromato de potássio no solo. Na concentração mais elevada (200 mM de cromato de potássio), Cr reduziu a colonização de raiz por *G.mosseae* ou *G.intraradices* (para 23 e 20%, respectivamente). Concentrações moderadas e elevadas de Cr reduziram todos os parâmetros de crescimento. A interação da inoculação e Cr aumentou o teor de clorofila foliar e prolina sendo que o teor de carotenóides não foi afetado. Na concentração de Cr mais elevada, as plantas inoculadas tinham o dobro da biomassa de plantas não inoculadas. A micorrização aumentou a tolerância das plantas de

pimenta a Cr no solo, modificando o metabolismo da prolina para assegurar uma resposta mais eficiente.

Segundo Weissenhorn et al., (1994) a colonização radicular por *G. mosseae* em milho (*Zea mays*) em solo contaminado por metais aumentou a massa vegetal e reduziu a absorção de Cd, Zn e Cu na parte aérea e raízes, fato também relatado para outras espécies. Estes resultados estão de acordo com (Dueck et al., 1986). Há evidências que as micorrizas podem reduzir o transporte de metais das raízes de plantas hospedeiras para a parte aérea (Andrade et al., 2003; Göhre & Paszkowski 2006).

Um aspecto considerável da contribuição dos FMA na recuperação de áreas degradadas está na capacidade das plantas micorrizadas aumentarem a área foliar. Este importante parâmetro fisiológico, reflete nas taxas fotossintéticas melhoradas em plantas hospedeiras, resultando em maior produção de fotoassimilados que, em parte, serão translocados aos FMA (Cavalcante et al., 2002 a, b). Silva et al. (2004) também afirmaram o aumento da taxa fotossintética de plantas à inoculação com FMA está diretamente relacionado ao aumento da área foliar, o que proporcionaria aumento do crescimento vegetativo e acúmulo de biomassa fresca e seca. Sendo assim, o incremento na área foliar possibilitado pelos FMA, coincide com os resultados observados por Cavalcante et al., (2002a) em maracujazeiro-amarelo e Costa et al., (2005) em mangabeira, os quais verificaram que a simbiose planta-FMA proporcionou um aumento na área foliar das frutíferas em relação às plantas não micorrizadas. De forma semelhante, Saggin Júnior (1997) mostraram que a inoculação de FMA em mudas de plantas, aumentaram em média 340% na área foliar, com destaque para o cedro (*Cedrela fissilis*) e trema (*Trema micranta*).

Siqueira et al., (2008) mostraram particularmente que o aumento de P conferido por FMA em espécies florestais favoreceu a produção de biomassa vegetal e aumento das taxas fotossintéticas. Rahmaty & Khara (2011) corroboram que plantas expostas a altos níveis de metais, o P fornecido por inoculação de FMA promoveu aumento da área foliar, dos teores de clorofila a e b nas folhas e da taxa fotossintética, o que aumentou a produção de açúcares solúveis e proteínas, contribuindo portanto para a tolerância por metais pesados. Anteriormente Siqueira et al. (1998), já afirmavam que a inoculação com FMA nas plantas hospedeiras, promoveu aumento na biomassa seca, que variou de 10% a 800%, sendo as maiores e mais consistentes respostas observadas em plantas jovens, na fase de viveiro. Além disso, neste estudo, os resultados relativos à biomassa seca não foram iguais, e em plantas submetidas à

inoculação com os FMA, o desenvolvimento foi superior à testemunha, o que pode ser atribuído à maior área foliar, que contribuiu para o acúmulo de biomassa seca, em resposta à maior produção de fotoassimilados.

Canton et al., (2016) avaliaram as respostas bioquímicas e ecofisiológicas sob estresse por manganês (Mn) em eucalipto (*Eucalyptus grandis*) associado ao fungo *Pisolithus tinctorius*. Concluíram que *P.tinctorius* foi tolerante concentrações elevadas de Mn no solo, especialmente na presença de glicose. As enzimas antioxidantes catalase e glutathione transferase foram ativados quando *P.tinctorius* foi exposto a Mn. Plantas micorrizadas cresceram mais e mais rápido do que as plantas não micorrizadas, independentemente da exposição ao Mn. A taxa da fotossíntese, eficiência intrínseca de uso da água e eficiência de carboxilação, foram todas inversamente correlacionadas concentração de Mn. A colonização por *P.tinctorius* aumentou o teor foliar de nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio em *E. grandis*. Estes autores aprovaram a grande eficiência do fungo *P.tinctorius* na redução do estresse por Mn em eucalipto.

Portanto, pode-se inferir a partir desta fundamentação teórica, que as alterações nas comunidades vegetacionais impostas pelas mineradoras de Fe no ES, é um problema ambiental grave, tornando assim, indispensável compreender os aspectos de crescimento, nutrição mineral e fisiologia de plântulas submetidas aos estresse de Fe em substrato ácido. O uso combinado (Si+FMA+planta) pode ser uma ferramenta ecologicamente imprescindível na remediação do estresse de Fe.

CAPÍTULO I

Crescimento, nutrição e fisiologia de plântulas de *Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), cultivadas em substrato ácido na presença de ferro e micorrizas.

COLODETE, CARLOS MOACIR. Universidade Vila Velha - ES, 22 de Fevereiro de 2018. **Crescimento, nutrição e fisiologia de plântulas de *Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), cultivadas em substrato ácido na presença de ferro e micorrizas.**

Orientador Brasileiro: Dr. Carlos Eduardo Tadokoro (UVV). Coorientador Brasileiro: Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UENF). Coorientador Estrangeiro: Dra. Cristina Maria Nobre Sobral de Vilhena da Cruz Houghton (FCUL).

RESUMO

Nos últimos anos, *S. terebinthifolius* RADDI pertencentes ao ecossistema restinga próximos das mineradoras de Fe no estado do ES, vem sendo constantemente devastadas, pois são fisiologicamente sensíveis ao Fe, podendo levar à redução no número populacional, distúrbios na dinâmica sucessional e em último cenário à sua extinção. Nesse contexto, uma proposta ecologicamente importante na resistência e resiliência destas e de outras espécies impactadas por elementos-traço no solo, é utilizando microrganismos naturais do solo, como os as micorrizas arbusculares. Com base no exposto, nossa hipótese é que a sensibilidade fisiológica da *S. terebinthifolius* RADDI frente a toxicidade por Fe é atenuada quando inoculadas com FMA. O objetivo deste trabalho, foi avaliar o efeito da micorrização sob as respostas de crescimento, cinética de absorção e acumulação de macro e micronutrientes e fisiologia de plântulas de aroeira submetidas ou não ao estresse de 2 mM de sulfato ferroso (FeSO_4) em substrato ácido. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, constando de quatro tratamentos: (Controle não micorrizado, Controle micorrizado, 2 mM com FeSO_4 não micorrizado e 2 mM FeSO_4 micorrizado). Em todas as soluções

aplicadas o pH foi ajustado para $\text{pH}=4,1\pm0,2$. Foram utilizados substrato autoclavados de areia:terra vegetal 1:1 (v/v). A inoculação dos FMA foram realizados no transplântio, utilizando-se o inóculo *C. entunicatum* (SCT101A) e as plântulas avaliadas 90 dias após inoculação. Nossos resultados mostraram reduções na colonização, dependência e estruturas fúngicas em raízes submetidas a 2 mM FeSO_4 . Porém, plântulas de aroeira mostraram-se altamente dependente da micorrização, de cerca de 380%. Plântulas não micorrizadas e expostas a 2 mM Fe, apresentaram bronzeamento foliar. Plântulas micorrizadas aumentaram os parâmetros de crescimento, quando submetidas a 2 mM FeSO_4 . O teor de Fe na parte aérea de plântulas micorrizadas do tratamento Controle e 2 mM FeSO_4 , foram inferiores em aproximadamente 59 e 84%, respectivamente, quando comparados aos da raiz. Os parâmetros fisiológicos foram maiores quando os tratamentos Controle e 2 mM FeSO_4 foram micorrizados. A relação F_v/F_m dos tratamentos Controle e 2 mM FeSO_4 micorrizados, foram acima dos indicadores de estresse, de cerca de 0,81 e 0,79 respectivamente, evidenciando melhora substancial do rendimento quântico máximo do fotossistema II. Analisando os resultados de forma conjunta (fotossistema II/ fotossistema I/ taxa fotossintética líquida) em plântulas micorrizadas dos tratamentos Controle e 2 mM FeSO_4 , evidenciou a baixa interferência do Fe na fase fotoquímica fotossistema II-fotossistema I) mas reduções na eficiência de carboxilação, indicando diminuição da atividade ou no teor da Rubisco no estroma do cloroplasto. Conclui-se que os FMA aliviaram os efeitos negativos do Fe em plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI sob estresse de metais, tornando-as mais resistentes aos efeito ao efeito estressante desse elemento-traço.

Palavras chaves: Plântulas restinga, contaminação por ferro, micorriza arbuscular, aliviação do estresse.

ABSTRACT

COLODETE, CARLOS MOACIR. University of Vila Velha – ES, February 22, 2018.
Growth, nutrition and physiology of seedlings of *Schinus terebinthifolius* RADDI (1820), cultivated on acid substrate in the presence of iron and mycorrhizae.
 Brazilian Advisor: Dr. Carlos Eduardo Tadokoro (UVV), Brazilian Co-advisor: Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UENF) and Foreign Co-advisor: Dra. Cristina Maria Nobre Sobral de Vilhena da Cruz Houghton (FCUL).

In recent years, *S. terebinthifolius* RADDI belonging to the restinga ecosystem close to the iron miners (Fe) in the state of ES, have been constantly devastated, since they are physiologically sensitive to Fe and may lead to a reduction in population numbers, disturbances in dynamics succession and in last scene to its extinction. In this context, an ecologically important proposal on the resistance and resilience of these and other species impacted by element-trace in the soil is the use of natural soil microorganisms, such as AMF. Based on the foregoing, our hypothesis is that the physiological sensitivity of *S. terebinthifolius* RADDI to Fe toxicity is attenuated when inoculated with AMF. The objective of this work was to evaluate the effect of mycorrhization under the growth responses, absorption and accumulation kinetics of macro and micronutrients and physiology of aroeira seedlings submitted to stress of 2 mM ferrous sulfate (FeSO_4) at acidic pH. The experiment was conducted in greenhouse, consisting of four treatments: (non-mycorrhizal Control, mycorrhizal Control, 2 mM with non-mycorrhized FeSO_4 and 2 mM mycorrhized FeSO_4). In all solutions the pH was adjusted to $\text{pH}=4.1\pm0.2$. Autoclaved sand substrate was used: 1:1 (v/v) soil. FMA inoculation was carried out in the transplant using the inoculum *Claroideoglomus entunicatum* (SCT101A) and the seedlings evaluated at 90 days after inoculation. Our results showed reductions in colonization, dependence and fungal structures in roots submitted to 2 mM FeSO_4 . However, aroeira seedlings were highly dependent on

mycorrhization, about 380%. Non-mycorrhized seedlings and exposed to 2 mM Fe, presented leaf tanning. Mycorrhizal seedlings increased growth parameters when submitted to 2 mM FeSO₄. The Fe content in the aerial part of mycorrhizal plants of the Control treatment and 2 mM FeSO₄, were inferior in approximately 59 and 84%, respectively, when compared to the root. Physiological parameters were higher when Control and 2 mM FeSO₄ treatments were micorrized. The Fv/Fm ratio of the Control treatments and 2 mM FeSO₄ mycorrhizal were above the stress indicators, of about 0.81 and 0.79 respectively, evidencing a substantial improvement in the maximum quantum yield of photosystem II. Analyzing the results together (photosystem II/ photosystem I/liquid photosynthetic rate) in mycorrhizal seedlings of the Control treatments and 2 mM FeSO₄, evidenced the low interference of Fe in the photochemical phase photosystem II-photosystem I but reductions in the efficiency of carboxylation, indicating a decrease in activity or in the Rubisco content in the chloroplast stroma. It was concluded that FMA relieved the negative effects of Fe on aroeira seedlings under metal stress, making them more resistant to the stress effect of this element-trace.

Keywords: Seedling seedlings, iron contamination, arbuscular mycorrhizae, stress alleviation.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a contaminação ambiental por atividades industriais vem se tornando um problema global, uma vez que os poluentes gerados podem afetar a funcionalidade, biodiversidade e sustentabilidade dos ecossistemas (Kuki et al., 2008; Araújo et al., 2015; Canton et al., 2016).

O Fe é um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre e um dos principais poluentes emitidos pelas atividades de mineração e beneficiamento de minério (Neves et al., 2009; Mohiuddin et al., 2014). Quando o Fe é ressuspenso na atmosfera, ele se acumula na vegetação (Grantz et al., 2003) e solo (Clemens et al., 2013) causando efeitos deletérios nas plantas. De fato, os estudos com plantas nativas em regiões costeiras no Brasil, sob a influência da atividade de processamento de minério de Fe, mostraram que espécies como *S. terebinthifolius* RADDI (Anarcadiaceae) têm sensibilidade fisiológica extremamente dependente do nível de estresse Fe a que são submetidas (Lopes et al., 2000; Oliveira et al., 2007; Kuki et al., 2009).

Em plantas superiores, o excesso de Fe pode causar danos ecofisiológicos e vários distúrbios nutricionais (Grantz et al., 2003; Chen et al., 2015; Krohling et al., 2016), e dependendo da magnitude do impacto, da intensidade e frequência das exposição, bem como da susceptibilidade e estágio de desenvolvimento das espécies vegetais, podem reduzir ou até eliminá-las de ecossistemas próximos às fontes poluidoras (Wong et al., 1978; Lopes et al., 2000; Rocha et al., 2014). Nessas condições, a acidez do solo causada por chuvas ácidas torna o Fe altamente disponível para a absorção pela raiz (Hell & Stephan 2003; Ricachenevsky & Sperotto 2014), podendo levar seu acúmulo a níveis fitotóxicos nos tecidos vegetais, conforme levantamentos anteriores (Lopes et al., 2000; Pugh et al., 2002; Silva et al., 2006), que descreveram um pH médio em solos de restinga no ES próximos fonte poluidora de cerca de 3 a 5,5.

Neste contexto, o uso de microrganismos é uma alternativa para preservar espécies vegetais nativas suscetíveis ao Fe e para mitigar seus efeitos nos ecossistemas. A introdução destes microrganismos no solo é uma estratégia promissora para aumentar a tolerância das plantas à alta disponibilidade de Fe e recuperação de áreas impactadas por atividades de mineração (Landeweert et al., 2001; Crane et al., 2010; Lermen et al., 2015). Neste caso, os FMA são fundamentais, pois podem conferir à planta hospedeira, efeito fitoprotetor aos níveis de toxidez por

Fe, imobilizando-os no solo e impedindo que sejam translocados da raiz para parte aérea (Khan et al., 2000; Rillig 2004; Göhre & Paszkowski 2006). Além disso, algumas espécies de FMA são conhecidos pela capacidade de aumentar o crescimento, nutrição e fisiologia de plantas hospedeiras que se desenvolverem em solos contaminados por metais (Van Tichelen et al., 2001; Rajkumar et al., 2012). De fato, a inoculação com FMA em plantas hospedeiras, induzem a incrementos na absorção nutrientes na rizosfera (Marschner & Dell 1994; Clark & Zeto 2000; Liao et al., 2003; Alizadeh 2012), resistência aos estresses bióticos e abióticos (Augé 2001; Ruiz-Lozano & Aroca 2010; Santander et al., 2017) e também na atividade fotossintética (Davies et al., 2002; Beltrano et al., 2013), via aumento na transferência de elétrons e assimilação de carbono (Shamshiri & Fattahi 2016). No entanto, respostas positivas nas plantas hospedeiras, dependem da relação fungo-planta-metal (Smith & Read 2008; Gaur & Adholeya 2004).

Estudos envolvendo a ecofisiologia de espécies nativas importantes (como a *S. terebinthifolius* RADDI) que se localizam em áreas de preservação sendo submetidas a contaminação do estresse por Fe, são escassos, especialmente quando se utilizar-mos microrganismos simbiossiontes como FMA, que são veículos de redução dos efeitos negativos do Fe sobre as plantas hospedeiras (Dawkins e Esiobu 2017).

Para testar a hipótese delimitada, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da micorrização sob as respostas de crescimento, cinética de absorção e acumulação de macro e micronutrientes da parte aérea e raiz e fisiologia da *S. terebinthifolius* RADDI, cultivadas em substrato ácido na presença de Fe.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Materiais vegetais e inóculos de FMA

As sementes *S. terebinthifolius* RADDI, 1820 (Sapindales: Anacardiaceae Lindley, 1830), foram adquiridas em casa comercial (Sementes Caiçara - Lote: 015 - Registro: 25492).

O inóculo micorrízico *C. entunicatum* (Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schussler (isolado SCT101A), composto por esporos fúngicos, hifas e raízes de *Brachiaria brizanta* colonizadas, foi obtido Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG), da Universidade Regional de Blumenau (Santa Catarina, Brasil) (<https://www.furb.br/cicg>). A densidade esporos foi verificada, realizando-se a extração de 20 mL do inóculo, conforme metodologia de Gerdemann & Nicolson (1963). A densidade aproximadamente obtida foi 307,6 esporos/cm³.

Delineamento experimental, condições crescimento e inoculação micorrízica

O experimento foi realizado em um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), constando de quatro tratamentos: 1) Controle (água destilada) não micorrizado (Controle-Não Mic); 2) Controle (água destilada) micorrizado (Controle-Mic); 3) 2 mM de sulfato ferroso (FeSO₄) não micorrizado (2 mM Fe-Não Mic) e 4) 2 mM de FeSO₄ micorrizado (2 mM Fe-Mic), com cinco repetições (n=20). Todas as soluções aplicadas nas plantas o pH foi ajustado para pH=4,1±0,2, tanto aos Controles quanto os tratamentos com FeSO₄.

As sementes utilizadas no experimento passaram por um processo de desinfestação de superfície com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos, e posteriormente com álcool 70% por 3 minutos. Após a esterilização, sementes foram semeadas em bandejas, contendo areia quartzo 12/20 previamente autoclavadas a 121°C, durante 60 minutos por três vezes, com um intervalo de 24 horas entre cada uma delas. O processo de germinação das mudas foi realizado em câmara de crescimento (16/8h luz/escuro), com intensidade luminosa de 350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de 25±1°C e 70% umidade, durante 30 dias. Após 30 dias de germinação as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 500 mL, contendo os substratos previamente autoclavados compostos de areia:terra vegetal na proporção 1:1 (v/v).

A inoculação dos FMA foram realizadas no transplantio, aplicando-se 20 mL do inóculo *C. entunicatum*, 3cm abaixo da superfície dos substratos presentes nos vasos. As plântulas não inoculadas (Controle), receberam quantidade equivalente ao inoculante, porém do mesmo substrato usado no experimento. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação por 90 dias após inoculação (d.a.i), no campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro (RJ) entre os meses de Março a Junho de 2016. Para regulação do pH das soluções em todos tratamentos, foram utilizados pHmetro portátil, com adição de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ ou hidróxido de potássio 0,1 mol L⁻¹. A solução 2mM FeSO₄ [Sigma - PM: 278,03] foi obtida a partir solução estoque (SE) (27,83g FeSO₄ em 100 mL água destilada), onde retirava-se (2 mL da SE em 1000 mL água destilada), sendo esta, considerada solução para aplicações. Todas plântulas foram submetidas à irrigação uniforme de água destilada em pH=4,1±0,23, mantendo o substrato próximo a capacidade campo. Duas vezes por semana e alternadamente, cada vaso contendo uma plântula inoculada foi regada com 50 mL de solução Clark ¼ força iônica (Clark 1975) e 50 mL de 2mM FeSO₄, mantendo-se o pH=4,1±0,23.

Ao final do experimento (90 d.a.i), foram coletados 50g do substrato de cada vaso, para amostragem dos tratamentos, n=5, totalizando quatro amostras compostas 250g, secos ao ar e armazenadas sacos papel identificados, para análise química solo na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), segundo metodologia (Embrapa 1997) e (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química do substrato dos vasos (areia:terra vegetal) 1:1 (v:v) das plântulas da *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Micorrizado com *C. entunicatum* em pH= 4,1± 0,2, aos 90 dias após a inoculação (n=5).

Tratamento	Inoculação	pH	P*	K*	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO	SB	T	t	M	V	Fe	Cu	Zn	Mn	S	B
		água	^a mg dm ⁻³				^b cmol _c dm ⁻³			%	^c g dm ⁻³		^b cmol _c dm ⁻³			%			^a mg dm ⁻³			
Controle	Non-Myc	4,2	5	12	0,8	0,3	1,8	8,4	0,02	3,03	52,2	1,2	9,6	3,0	61,0	12,0	90,0	0,6	1,5	6,2	5,9	0,27
	Myc	4,2	8	17	1,1	0,4	2,2	12,2	0,02	2,79	48,1	1,6	13,8	3,8	58,5	11,4	52,0	0,7	1,3	10,9	6,8	0,21
	Média	4,2	6,5	14,5	0,95	0,35	2,0	10,3	0,02	2,91	50,15	1,4	11,7	3,4	59,7	11,7	71,0	0,65	1,4	8,55	6,35	0,24
2 mM Fe	Non-Myc	3,8	8	10	0,6	0,2	2,8	10,3	0,01	2,12	36,5	0,8	11,1	3,6	77,0	7,5	147,0	0,7	1,2	4,2	30,3	0,32
	Myc	4,2	8	17	1,0	0,3	2,9	11,8	0,01	2,42	41,7	1,4	13,2	4,3	68,2	10,3	84,0	1,0	1,9	10,0	50,7	0,38
	Média	4,0	8	13,5	0,8	0,25	2,85	11,5	0,01	2,27	39,1	1,1	12,1	3,9	72,6	8,9	115,5	0,85	1,55	7,1	40,5	0,35
	^d M.T.	4,1	7,2	14,0	0,87	0,3	2,42	10,9	0,01	2,59	44,6	1,2	11,9	3,6	66,1	10,3	93,25	0,75	1,5	7,82	23,42	0,29
	^e DP	0,2	1,5	3,6	0,2	0,1	0,5	1,7	0,0	0,4	6,9	0,3	1,9	0,5	8,3	2,0	39,5	0,2	0,3	3,2	21,4	0,1

* Extrator Carolina do Norte; MO=Matéria orgânica; SB=Soma das bases; T=CTC a pH 7.0; t=CTC efetiva; m=Saturação de alumínio; V=Saturação das bases. Conversões: ^a mg dm⁻³ = partes por milhão (ppm); ^b cmol_c dm⁻³ = miliequivalente (meq) 100 cm³; ^c g dm⁻³ = % x 10; ^d M.T=Média total; ^e DP= Desvio padrão.

Colonização, dependência micorrízica e micrografia óptica

No final do experimento (90 d.a.i), foram avaliadas a porcentagem colonização micorrízica das raízes de aroeira dos tratamentos (Controle-micorrizado e 2 mM Fe-micorrizado) com 100 fragmentos de raízes em quatro plântulas de cada tratamento, determinado pelo número de interseções reticuladas em placas de Petri conforme Giovannetti & Mosse (1980), sendo corados com azul tripano, segundo Philips & Hayman (1970).

A dependência micorrízica foi calculada com base na massa seca total (MS_{total} = MSPA + MSR), segundo a equação (1):

$$\text{Dependência Micorrízica (\%)} = \frac{[(MS_{total} \text{ planta micorrizada} - MS_{total} \text{ planta-controle}) / (MS_{total} \text{ planta-controle})] \times 100}{\text{Eq.(1)}}$$

Para micrografia óptica as raízes de plântulas de aroeira dos tratamentos (Controle-micorrizado e 2 mM Fe-Micorrizado), foram preservadas e fixadas em glicerol ácido. As amostras foram observadas em microscópio óptico Axioplan ZEISS (Carls Zeiss, Jena, Germany), adaptado com câmera digital AxioCam MRc5 para captura de imagens, e software AxioVisionle versão 4.8 (Carls Zeiss, Jena, Germany) para análise das imagens em 200 μm .

Avaliação das características de crescimento da aroeira e Índice de Qualidade de Dickson (IQD)

Aos 90 d.a.i, foram avaliados a altura das plântulas em centímetro (cm), com auxílio de trena, da base caule ao ápice foliar; o número de folha (unidade), pela contagem dos órgãos; o diâmetro do caule em milímetro (mm), utilizando paquímetro digital (Digital Caliper, USA), a 10 cm solo. Na desmontagem experimental, as plântulas foram divididas parte aérea e raiz, sendo área foliar em centímetro quadrado (cm^2) avaliada imediatamente, utilizando medidor área bancada eletrônico, modelo LI-3100C (LI-COR® Ambiental - LI-COR Biosciences). As partes aéreas e as raízes das plântulas, foram postas em sacos de papel individualmente identificados e secos por 72h em estufa microprocessada de circulação forçada de ar (Q314M-Quimis) a 75°C até biomassa constante. Por meio de pesagem em balança analítica precisão

(AUW220D-Shimadzu), foi determinada massa seca da raiz (MSR) (g) e massa seca da parte aérea (folha/caule) (MSPA) (g), bem como a relação raiz/parte aérea (g).

As modificações morfológicas dos limbos foliares como aparecimento de bronzeamento foliar, foram registradas visualmente (Figuras 1 A e B), comparando-se aos trabalhos de Jucoski et al., (2013; 2016).

O IQD foi obtido conforme fórmula de (Dickson et al., 1960), onde em que MST (g) = massa seca total; A (cm) = altura da plântulas até a gema apical; DC (mm) = diâmetro do caule; MSPA (g) = massa seca da parte aérea, e MSR (g) = massa seca da raiz, conforme a equação (2):

$$\text{IQD (\%)} = \frac{\text{MST (g)}}{[\text{A (cm)} / \text{DC (mm)}] + [\text{MSPA (g)} + \text{MSR (g)}]} \quad \text{Eq.(2)}$$

Trocas gasosas, Índice SPAD e Fluorescência

As medições foram realizadas entre 07:00 as 09:00 horas em duas folhas completamente expandidas das partes superiores de cada plântulas por tratamento (segunda ou terceira folha, contadas a partir do ápice, posicionadas lados opostos) para medições de trocas gasosas [Taxa fotossintética líquida, ou de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); condutância estomática ao vapor de água (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); eficiência intrínseca do uso da água ($i\text{WUE}$), estimada pelo cálculo da razão entre A e g_s ; eficiência carboxilação (A/C_i), estimada pelo cálculo da razão entre A e C_i ; razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a). A troca troca gasosa foi medida 90 d.a.i, utilizando-se de um analisador de gás a infravermelho (IRGA, Infrared Gas Analyzer), modelo Li-6400 (Li-Cor, Biosciences Inc., Nebraska, EUA). A radiação fotossinteticamente ativa foi mantida constante no interior da câmara, com uma intensidade de $500 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, e foi aplicada sobre uma área foliar de 6 cm^2 , sem aquecimento foliar, por meio do sistema de iluminação artificial composto de uma mistura de LED's (Light Emitting Diodes) azuis e vermelhos acoplados ao equipamento (a fonte de luz artificial foi fornecida pelo fabricante Li-Cor, USA). Durante as avaliações, a temperatura foliar de 27°C e níveis ambientais de CO_2 ($400 \mu\text{mol mol}^{-1}$).

O índice de cor verde (Índice SPAD) foi avaliado por meio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 “Soil Plant Analiser Development” (Minolta, Japão), nas mesmas folhas e nos mesmos dias em que foram realizadas as medidas de trocas gasosas. Foram utilizadas a média de cinco leituras por folha, duas folhas por plântulas, cinco repetições por tratamento. O rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) e o índice fotossintético (PI) foram obtidos com auxílio do fluorímetro Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser), nas mesmas folhas em que foram realizadas as medidas de trocas gasosas, as quais foram adaptadas ao escuro por 30 minutos com auxílio de pinças adequadas (acompanhadas com o equipamento, pelo mesmo fabricante). Essa adaptação ao escuro foi feita para que os centros de reações estivessem completamente abertos com perda mínima de calor (Strasser et al., 2000). Após a adaptação, um único pulso forte de luz ($3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi aplicado com a ajuda de três diodos emissores de luz (650 nm). As avaliações foram realizadas às 7:30 horas. Para as avaliações da variável PI, foi feito o mesmo procedimento, já que os valores também são fornecidos pelo fluorímetro Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser).

O JIP-teste (Strasser & Strasser 1995; Strasser et al., 2004) foi usado para interpretar os dados originais da fluorescência da clorofila e parâmetros biofísicos que quantificam o fluxo de energia através do PSII (Thach et al., 2007).

Análise do teor e conteúdo de nutrientes da parte aérea e raiz das plântulas de aroeira

A análise do teor de nutrientes das plântulas de aroeira foram realizadas após 90 d.a.i. O teor de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B) foram quantificados usando plasma indutivamente acoplado espectrometria de emissão (ICP-OES) da marca Shimadzu, após digestão com HNO_3 (Merck) e H_2O_2 (Merck) em um sistema de digestão aberto (Peters 2005). As condições ICP foram as seguintes: fluxo de plasma $8,0 \text{ L min}^{-1}$, Gás auxiliar $0,70 \text{ L min}^{-1}$ e gás transportador $0,55 \text{ L min}^{-1}$. O nitrogênio (N) foi submetido à digestão sulfúrica, medido pelo método de Nessler (Jackson 1965) na sequência por manual de análise de solos e plantas (Kalra 1998).

A quantidade total de nutrientes acumulada em cada parte planta (parte aérea/raiz), foram avaliadas com base teor obtido pela produção material seco, por tratamento.

Análise dos dados

Os dados de colonização e dependência dos FMA, foram analisados estatisticamente por análises de variância (ANOVA) simples, após transformação percentual. Quando verificado que houve variância entre os tratamentos, os valores médios foram comparados pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Os efeitos da inoculação, tratamento com Fe e parâmetros ecofisiológicos das plântulas foram analisados estatisticamente pelo *two-way* ANOVA. Quando um fator ou nenhuma interação entre os fatores foi considerada estatisticamente significativa, realizamos comparações de pares, por meio de um teste *t* e corrigidos os resultados correspondentes para comparações múltiplas pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o GraphPad Prism 7.0 utilizando um nível de significância de 5%. A análise multivariada de componentes principais (PCA) foi usada para relacionar todos parâmetros ecofisiológicos como: teor de nutrientes das raízes e partes aéreas, conteúdo nutrientes nas raízes e partes aéreas, as biomassas secas da raízes e partes aéreas, relação R:PA, trocas gasosas, índice de cor verde clorofila e porcentagem de colonização micorrízica na *S. terebinthifolius* RADDI, em diferentes tratamentos a $\text{pH}=4,1 \pm 0,2$, utilizando-se o programa Fitopac 2.1.2.85.

3. RESULTADOS

Porcentagem de colonização, dependência micorrízica e micrografia óptica

A porcentagem de colonização micorrízica nas raízes das plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI, foi significativamente superior no tratamento sem exposição ao Fe, quando comparado ao tratamento com 2 mM Fe ($P \leq 0,0001$; Figura 4A). Não foram observadas colonizações micorrízicas nas raízes de plântulas não inoculadas.

Similarmente, a dependência micorrízica em plantas com exposição a 2 mM Fe diminuiu cerca de 54% em relação ao tratamento controle ($P \leq 0,0001$; Figura 4B).

Com base na micrografia óptica, pôde-se observar fragmentos de raízes colonizadas com *C. etunicatum* foram observados estruturas típicas dos FMA, como: vesículas, apressórios, hifas internas e externas, esporos e arbúsculos (Figura 4C e D). Por outro lado, nas raízes com exposição a 2 mM Fe foram observados esporos, hifas externas e absorptivas, vesículas e esporos jovens (Figura 4E e F). De fato, foi constatado um declínio nas estruturas do *C. etunicatum* como hifas, vesículas e arbúsculos em raízes com exposição a 2 mM Fe (Figura 4C, D, E e F).

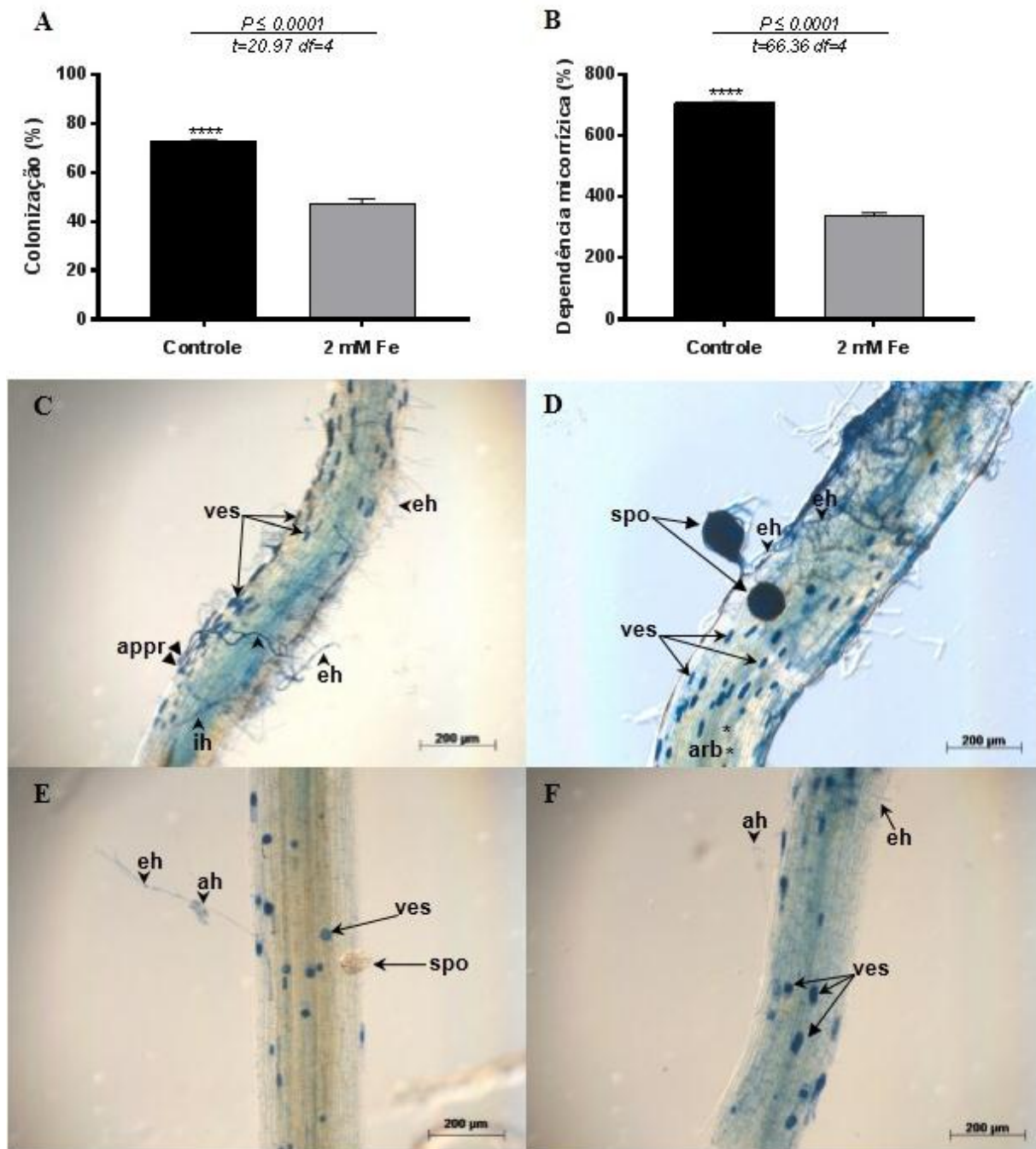


Figura 4. (A) Porcentagem de colonização micorrízica; (B) Porcentagem de dependência micorrízica; (C/D) micrografia óptica nas raízes de plântulas *S. terebinthifolius* RADDI (Controle) colonizados com *C. entunicatum* em pH= $4,1 \pm 0,2$ aos 90 dias após a inoculação (n=3), mostrando: vesículas (ves); apressório (appr); hifa interna (ih); hifa externa (eh); esporos (spo) e arbúsculo (*), barras=200 μ m; (E/F) micrografia óptica das raízes de plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI submetidas a (2 mM Fe de FeSO_4) colonizados com *C. entunicatum* em pH= $4,1 \pm 0,2$, aos 90 dias após a inoculação (n=3), mostrando: hifa externa (eh). hifa interna (ih). vesícula (ves). esporo (spo) e hifa absorvitiva (ah), barras=200 μ m. Os dados foram analisados pelo teste *t* em $P \leq 0,05$ (n=3).

Respostas de crescimento e sintomas toxidez por excesso Fe na aroeira

Foram obtidos aumentos significativos na produção de massa seca da parte aérea nos tratamentos da *S. terebinthifolius* RADDI micorrizados, cerca de 7 vezes maior quando comparados aos não micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 5C; Tabela 5).

De maneira similar, foram verificados acréscimos significativos na produção de massa seca da raiz nos tratamentos micorrizados controle (sem Fe) de 610% ($P < 0,0001$; Figura 5D; Tabela 5) e a 2mM Fe de 143% ($P = 0.0008$; Figura 5D; Tabela 5) quando comparados ao não micorrizado.

As plântulas *S. terebinthifolius* RADDI micorrizadas apresentaram também maior IQD do que as plântulas não micorrizadas ($P < 0,0001$; Figura 5E; Tabela 5). As plântulas não micorrizadas e micorrizadas diferiram na forma como ajustam a partição da biomassa entre a raiz e a parte aérea em resposta a exposição a 2 mM Fe ($P < 0,0001$; Figura 5F; Tabela 5).

As plântulas *S. terebinthifolius* RADDI não micorrizadas aumentaram proporcionalmente a biomassa alocada nas raízes enquanto nas plântulas micorrizadas essa partição não apresentou diferença significativa ($P < 0,0001$; Figura 5F; Tabela 5). A utilização da razão R:PA é um excelente indicador de desempenho micorrízico sobre as plantas, especialmente quando expostas ao 2 mM Fe. Menores valores desta razão R:PA em plantas micorrizadas com exposição a 2 mM Fe representam maior eficiência na promoção de biomassa seca em função da micorrização.

Plântulas *S. terebinthifolius* RADDI não micorrizadas com exposição a 2mM Fe apresentaram sintomas típicos de toxicidade por Fe, como bronzeamento foliar (Figura 5A e B) quando comparados aos trabalhos de Jucoski et al., (2013; 2016).

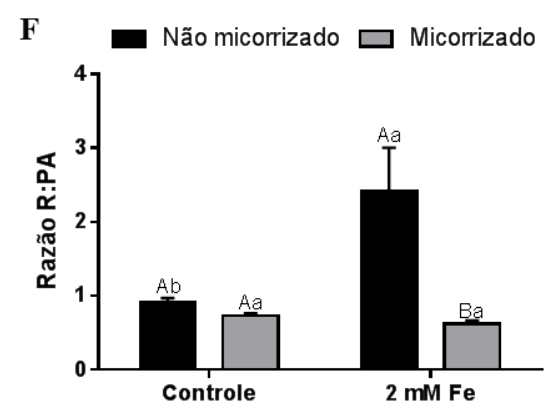
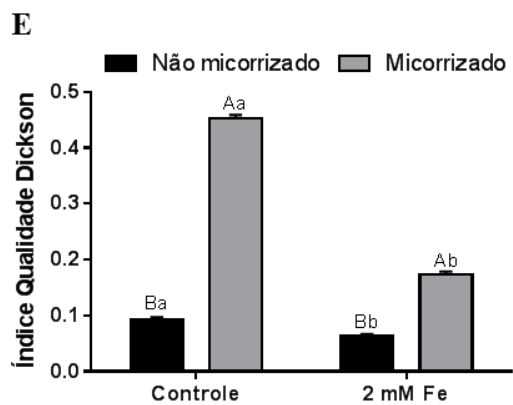
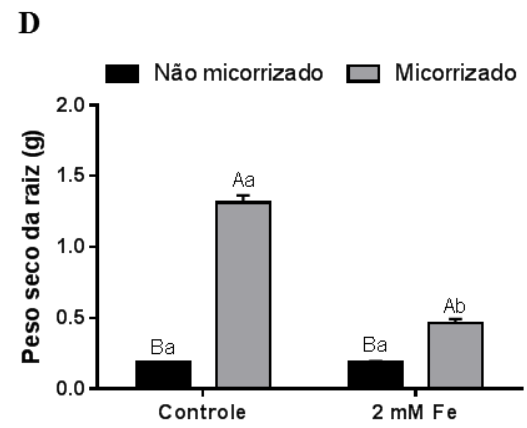
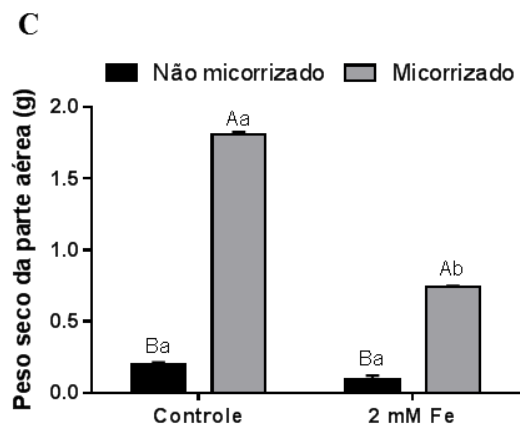


Figura 5. (A) Visualização frontal do experimento; (B) visualização superior do experimento; (C) peso seco da parte aérea (g). (D) peso seco da raiz (g); (E) Índice de Qualidade de Dickson (IQD); (F) razão raiz:parte aérea da *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado (Controle-Não-Mic), Controle-Micorrizado (Controle-Mic), 2 mM Fe de FeSO₄-Não micorrizado (2 mM Fe-Não-Mic), 2 mM Fe de FeSO₄-Micorrizado (2 mM Fe Mic) com *C. entunicatum* em pH= 4,1± 0,2, aos 90 dias após a inoculação (n=6). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO₄) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=6).

Em termos da parte aérea, as plântulas *S. terebinthifolius* RADDI responderam à inoculação com *C. etunicatum*, apresentando elevada área foliar ($P < 0,0001$; Figura 6A; Tabela 6), número de folhas ($P < 0,0001$; Figura 6B; Tabela 6) e tamanho total representado pela relação área foliar:número de folhas ($P < 0,0001$; Figura 6C; Tabela 6). O efeito da micorrização foi maior quando as plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI não foram expostas a 2 mM Fe ($P < 0,0001$; Figura 6A, B e C; Tabela 6).

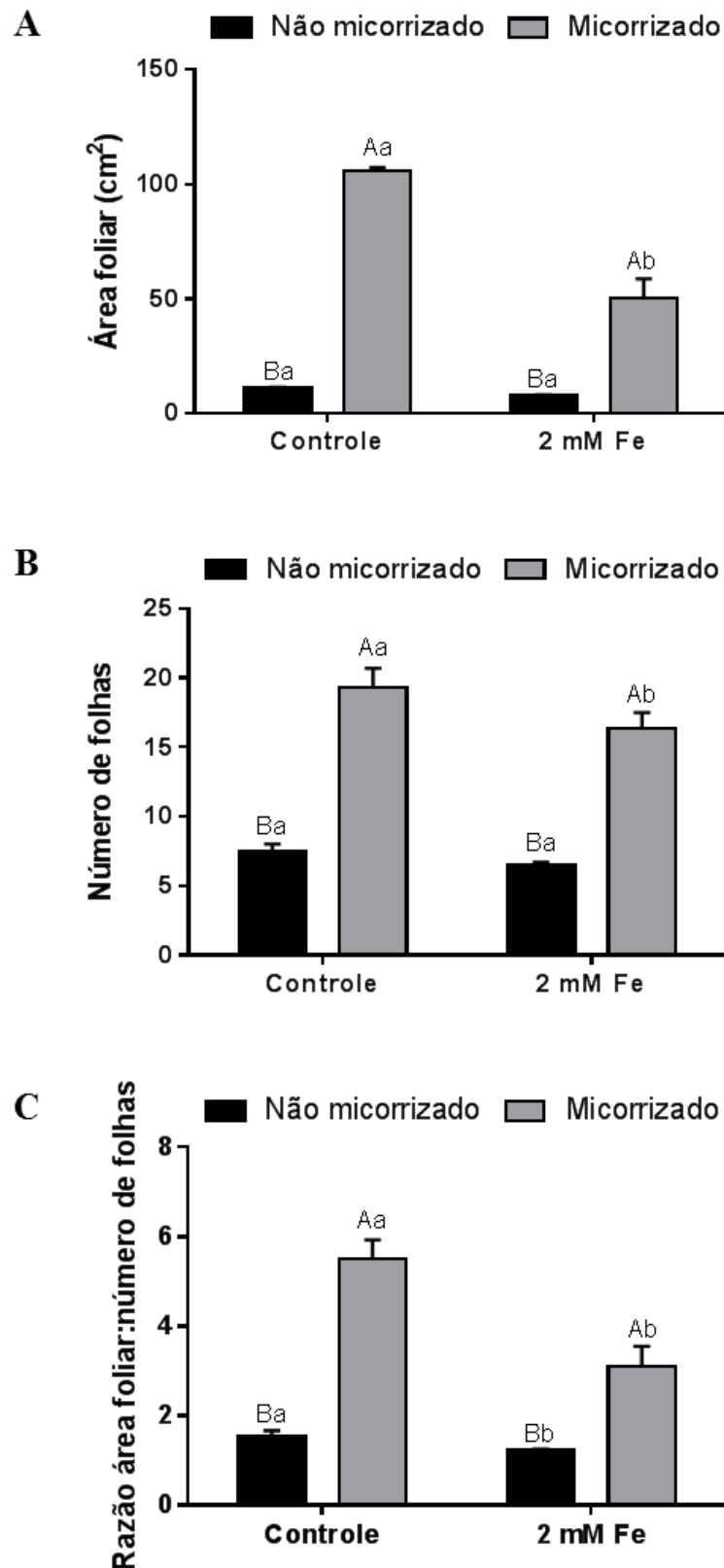


Figura 6. (A) Área foliar (cm²); (B) Número de folhas; (C) Razão da área foliar: número de folhas das plântulas *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Micorrizado com *C. entunicatum* em pH= 4,1± 0,2, aos 90 dias após a

inoculação (n=6). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO_4) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=6).

Acumulação e distribuição de macro e micronutrientes na parte aérea e raiz

Para a acumulação e distribuição dos teores de nutrientes na parte aérea das plântulas *S. terebinthifolius* RADDI do tratamento Controle micorrizados, aumentaram significativamente para N, P, K e Cu e reduziram significativamente para Ca, Mg, S, Fe, B, Mn e Zn, quando comparados aos não micorrizados (Tabela 2 e Tabela 7). Já para a acumulação e distribuição dos teores de nutrientes na parte aérea das plântulas *S. terebinthifolius* RADDI do tratamento 2 mM Fe micorrizados, aumentos significativos para N, P, K, Ca, Mg, S, Mn, Cu e Zn e reduções significativas para Fe, B, e Mn, quando comparados aos não micorrizados (Tabela 2 e Tabela 7).

Já para a acumulação e distribuição dos teores de nutrientes na raiz das plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI do tratamento controle micorrizados reduziram significativamente para P, K, Ca, Mg, Fe, B, Cu, Mn e Zn e sem diferença significativa para N, quando comparados aos não micorrizados (Tabela 3 e Tabela 8). Por outro lado, do tratamento 2 mM Fe micorrizados não houve diferença significativa para N e P, aumentos significativos K, S e Zn e redução significativa para Ca, Mg, Fe, B, Cu e Mn quando comparados aos não micorrizados (Tabela 3 e Tabela 8).

Tabela 2. Teor de macro (mg Kg^{-1}) e micronutrientes ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) da parte aérea das plântulas da *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Micorrizado com FMA *C. entunicatum* em $\text{pH} = 4,1 \pm 0,2$, aos 90 dias após a inoculação. Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO_4) seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ ($n=6$).

Nutrientes	Controle		2 mM Fe	
	Não Micorrizado	Micorrizado	Não Micorrizado	Micorrizado
<i>Macronutriente (mg Kg^{-1})</i>				
N	4.04 $\pm$ 0.02Ba	4.14 $\pm$ 0.02Ab	3.87 $\pm$ 0.02Bb	4.28 $\pm$ 0.05Aa
P	0.31 $\pm$ 0.01Ba	0.39 $\pm$ 0.01Aa	0.25 $\pm$ 0.01Ba	0.39 $\pm$ 0.02Aa
K	10.29 $\pm$ 0.02Ba	13.08 $\pm$ 0.02Aa	9.14 $\pm$ 0.02Bb	12.51 $\pm$ 0.02Ab
Ca	7.38 $\pm$ 0.01Aa	5.99 $\pm$ 0.02Ba	4.03 $\pm$ 0.01Bb	5.97 $\pm$ 0.02Aa
Mg	3.58 $\pm$ 0.01Aa	3.40 $\pm$ 0.00Bb	2.76 $\pm$ 0.02Bb	3.70 $\pm$ 0.00Aa
S	2.15 $\pm$ 0.00Aa	2.08 $\pm$ 0.00Bb	2.08 $\pm$ 0.00Bb	2.94 $\pm$ 0.00Aa
<i>Micronutriente ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)</i>				
Fe	577.37 $\pm$ 2.29Ab	370.94 $\pm$ 3.55Bb	1174.34 $\pm$ 4.54Aa	640.05 $\pm$ 9.48Ba
B	19.01 $\pm$ 0.03Ab	16.02 $\pm$ 0.02Bb	19.28 $\pm$ 0.02Aa	18.47 $\pm$ 0.00Ba
Cu	4.47 $\pm$ 0.02Bb	6.16 $\pm$ 0.02Ab	5.94 $\pm$ 0.02Ba	10.39 $\pm$ 0.02Aa
Mn	175.91 $\pm$ 0.03Aa	78.57 $\pm$ 0.02Bb	115.46 $\pm$ 0.01Ab	114.90 $\pm$ 0.00Ba
Zn	20.53 $\pm$ 0.01Ab	15.37 $\pm$ 0.01Bb	21.21 $\pm$ 0.00Ba	21.63 $\pm$ 0.00Aa

Tabela 3. Teor de macro (mg Kg^{-1}) e micronutrientes ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) da raiz das plântulas *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Micorrizado com FMA *C. entunicatum* em $\text{pH} = 4,1 \pm 0,2$, aos 90 dias após a inoculação. Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO_4) seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ ($n=6$).

Nutrientes	Controle		2 mM Fe	
	Não Micorrizado	Micorrizado	Não Micorrizado	Micorrizado
<i>Macronutriente (mg Kg^{-1})</i>				
N	2.21 $\pm$ 0.02Aa	2.17 $\pm$ 0.02Aa	2.06 $\pm$ 0.03Ab	2.17 $\pm$ 0.02Aa
P	0.41 $\pm$ 0.02Aa	0.34 $\pm$ 0.00Ba	0.36 $\pm$ 0.00Ab	0.38 $\pm$ 0.00Aa
K	14.21 $\pm$ 0.01Aa	11.61 $\pm$ 0.01Ba	10.01 $\pm$ 0.01Bb	11.51 $\pm$ 0.01Ab
Ca	4.45 $\pm$ 0.01Aa	3.29 $\pm$ 0.00Ba	2.97 $\pm$ 0.01Ab	2.51 $\pm$ 0.01Bb
Mg	4.22 $\pm$ 0.00Ab	3.74 $\pm$ 0.00Ba	5.44 $\pm$ 0.00Aa	2.83 $\pm$ 0.00Bb
S	1.45 $\pm$ 0.00Ab	1.43 $\pm$ 0.00Ab	1.81 $\pm$ 0.00Ba	2.28 $\pm$ 0.00Aa
<i>Micronutriente ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)</i>				
Fe	1567.14 $\pm$ 3.26Ab	919.38 $\pm$ 3.12Ba	8494.98 $\pm$ 3.51Aa	4135.28 $\pm$ 4.31Bb
B	54.86 $\pm$ 0.00Aa	17.78 $\pm$ 0.00Bb	39.24 $\pm$ 0.00Ab	22.04 $\pm$ 0.00Ba
Cu	14.54 $\pm$ 0.00Ab	13.02 $\pm$ 0.00Bb	26.43 $\pm$ 0.00Aa	23.24 $\pm$ 0.00Ba
Mn	149.87 $\pm$ 0.02Aa	70.30 $\pm$ 0.01Bb	103.87 $\pm$ 0.01Ab	78.94 $\pm$ 0.01Ba
Zn	48.61 $\pm$ 0.01Aa	32.37 $\pm$ 0.00Bb	44.63 $\pm$ 0.00Bb	54.92 $\pm$ 0.00Aa

Acumulação e distribuição do teor de Fe na parte aérea e raiz

Os teores de Fe na raiz e parte aérea das plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI micorrizadas dos tratamentos controle e 2 mM Fe foram significativamente menores, quando comparados as plântulas não micorrizadas respectivamente ($P < 0,0001$; Figura 7A e B; Tabela 9). Além disso, o teor de Fe na parte aérea de plântulas micorrizadas do tratamento controle e 2mM Fe, foram significativamente inferiores em aproximadamente 59 e 84%, respectivamente, dos valores encontrados para as raízes das plântulas de aroeira ($P < 0,0001$; Figura 7A e B; Tabela 9). De fato, *C. entunicatum* pode fornecer proteção para a plântulas hospedeira quando expostas ao estresse de Fe ($P < 0,0001$; Figura 7A e B; Tabela 9). Plântulas dos tratamentos Controle e 2 mM Fe não micorrizadas diferiram significativamente, quando comparados as não micorrizadas ($P < 0,0001$; Figura 7C; Tabela 9).

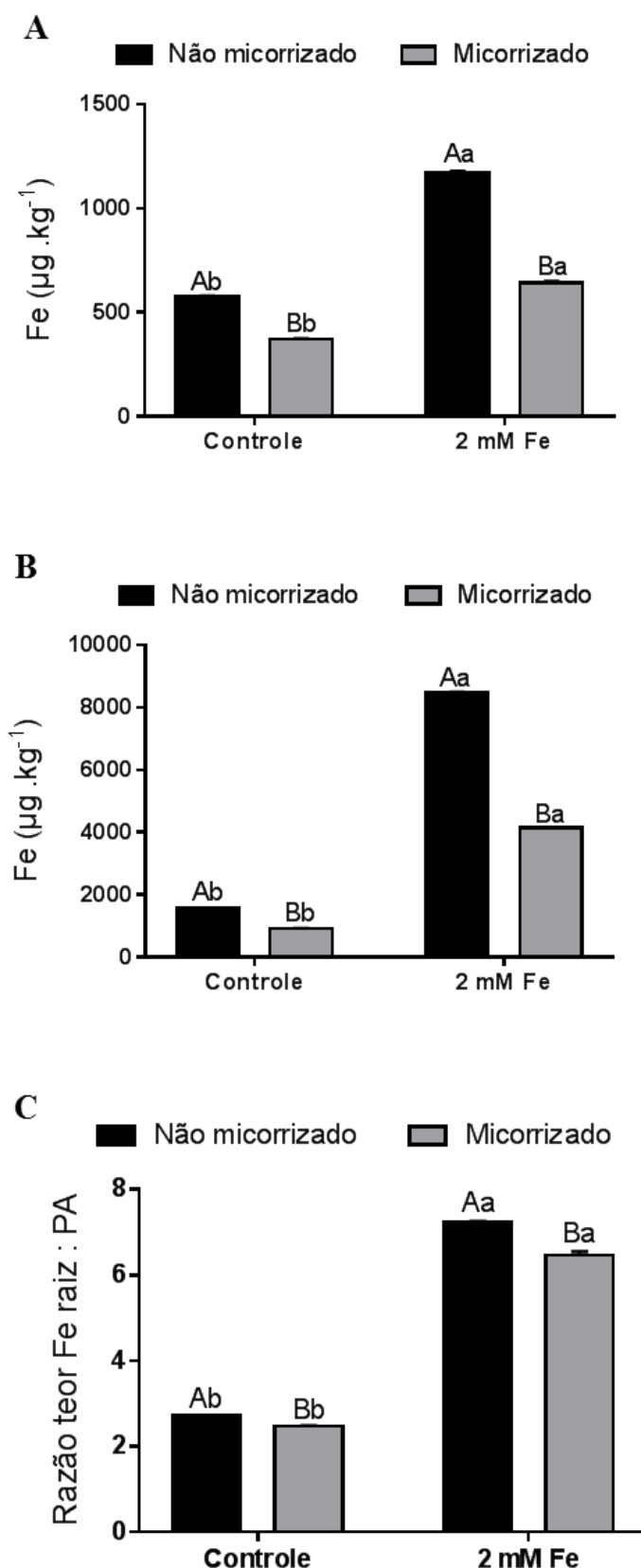


Figura 7. (A) Teor de Fe na parte aérea; (B) Teor de Fe na raiz; (C) Razão do teor de Fe raiz:parte aérea (PA) das plântulas *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Micorrizado com *C. entunicatum* em $\text{pH} = 4,1 \pm 0,2$, aos 90 dias

após a inoculação (n=6). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO_4) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=6).

Respostas fisiológicas

Índice SPAD

O índice SPAD dos tratamentos Controle e 2 mM Fe das plântulas *S. terebinthifolius* RADDI micorrizadas aumentaram na ordem de 45 e 75% respectivamente, quando comparados aos não micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 8; Tabela 10). foram observados que os tratamentos com 2mM Fe apresentaram valores do índice SPAD significativamente menores, quando comparados com os tratamentos controle. ($P < 0,0001$; Figura 8; Tabela 10).

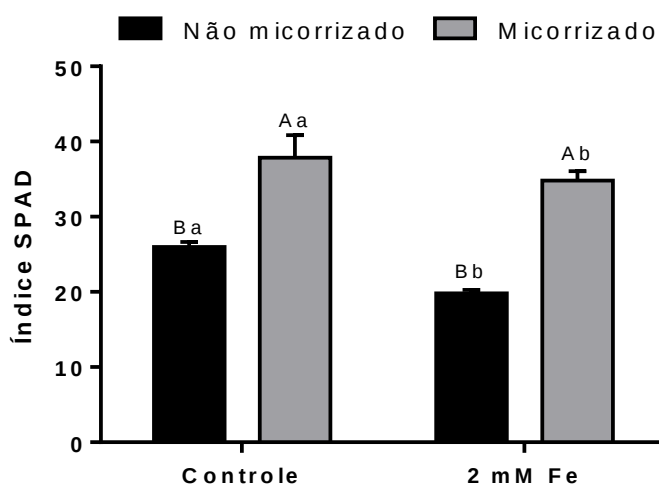


Figura 8. Índice SPAD de cor verde de clorofila das folhas das plântulas da *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO_4 -Micorrizado com FMA *C. entunicatum* em $\text{pH} = 4,1 \pm 0,2$, aos 90 dias após a inoculação (n=6). Os

dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO_4) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ ($n=6$).

Resposta fotossintética

A capacidade fotossintética das plântulas *S. terebinthifolius* RADDI medida pela absorção líquida de carbono (A) foi significativamente maior nos tratamentos Controle e 2 mM micorrizados, se comparados aos não micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 9A; Tabela 11). De forma semelhante, outros parâmetros como condutância estomática (g_s), transpiração (E), eficiência no uso da água ($iWUE$), eficiência de carboxilação (A/C_i), razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) e o índice fotossintético (PI), apresentaram o mesmo padrão de resposta ($P < 0,0001$; Figura 9B, C, D, E, F, G e H; Tabela 11).

Os tratamentos controle e 2 mM Fe micorrizados, não diferiram significativamente seus valores médios na capacidade fotossintética (A) ($P < 0,0001$; Figura 9A; Tabela 11). Um padrão de resposta similar ocorreu para eficiência no uso da água ($iWUE$), razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a) e rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) ($P < 0,0001$; Figura 9D, F, H; Tabela 11). Por outro lado, nos tratamentos controle e 2 mM Fe micorrizados diferiram significativamente para condutância estomática (g_s), transpiração (E), eficiência de carboxilação (A/C_i) e o índice fotossintético (PI) ($P < 0,0001$; Figura 9B, C, E e G; Tabela 11). A redução significativa em PI , no tratamento 2 mM Fe micorrizado, quando comparado seu controle pode ser um indicativo de declínio no poder redutor ferredoxina e desbalanço na transferência cíclica de elétrons ($P < 0,0001$; Figura 9G; Tabela 11).

A relação F_v/F_m é um bom indicador de estresse, podendo variar entre 0,7 a 0,8 em plantas não submetidas ao estresse (Bolhàr-NordenKampf et al., 1989). Nos tratamentos controle e 2 mM Fe não micorrizados, obtiveram valores abaixo dos indicadores de estresse, de cerca de 0,5 e 0,4, respectivamente na relação

rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) ($P < 0,0001$; Figura 9H; Tabela 11). Houve um declínio significativo nos tratamentos 2mM Fe não micorrizado, quando comparados aos tratamentos controle, indicando assim efeito fotoinibitório no rendimento quântico máximo do PSII ($P < 0,0001$; Figura 9H; Tabela 11). Por outro lado, na relação F_v/F_m dos tratamentos controle e 2 mM Fe micorrizados, foram observados valores acima dos indicadores, de cerca de 0,81 e 0,79 respectivamente, evidenciando melhora substancial do rendimento quântico máximo do PSII ($P < 0,0001$; Figura 9H; Tabela 11).

Analizando os resultados de forma conjunta (PSII/PI/A) plântulas micorrizadas dos tratamentos controle e 2 mM Fe ($P < 0,0001$; Figura 9A, G, H; Tabela 11), indicaram baixa interferência do Fe na fase fotoquímica (PSII-I) refletido na não diferença significativa na capacidade fotossintética (A), provavelmente pelos atributos nutricionais dos FMA nestas plântulas. As plântulas dos tratamentos controle e 2 mM Fe micorrizados, obtiveram aumentos significativos na razão entre concentração CO_2 interna e concentração CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a), quando comparadas as não micorrizadas, possivelmente pelos benefícios hídricos da micorrização nestas plantas a partir dos parâmetros $iWUE$ e g_s ($P < 0,0001$; Figura 9B, D e E; Tabela 11). No tratamento 2 mM Fe micorrizados, foram obtidos reduções significativas na eficiência da carboxilação (A/C_i), quando comparado ao tratamento controle micorrizado, indicando diminuição da atividade ou no teor da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase (Rubisco) no estroma cloroplasto ($P < 0,0001$; Figura 9E; Tabela 11).

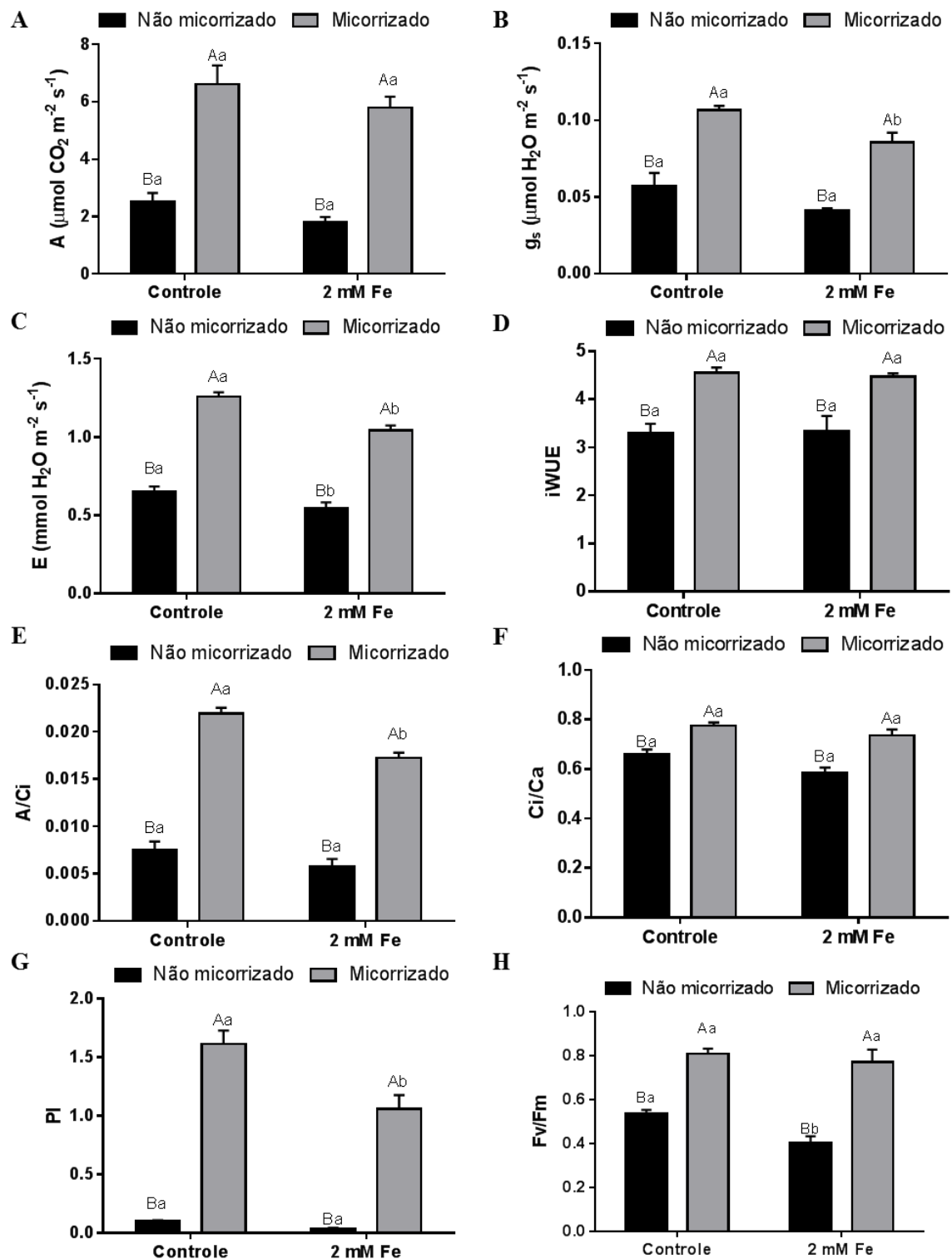


Figura 9. (A) Taxa fotossintética líquida, ou de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (B) condutância estomática ao vapor de água (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (C) taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (D) eficiência intrínseca do uso da água ($iWUE$); (E) eficiência carboxilação (A/C_i); (F) razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a); (G) índice fotossintético (PI) e (H) rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) nas folhas de

plântulas *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Micorrizado com *C. entunicatum* em pH= 4,1± 0,2, aos 90 dias após a inoculação (n=6). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO₄) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=6).

Resposta fotossintética de fluorescência do JIP-teste

Os resultados fotossintéticos de fluorescência derivados o JIP-teste, indicaram que a baixa interferência do Fe nos parâmetros (PSII-I) (Tabela 4 e Tabela 12), refletido na não diferença significativa na capacidade fotossintética (A) (Figura 9A; Tabela 11), não sendo devido à fase fotoquímica, mas sim à fase bioquímica, pela reduções significativas na eficiência da carboxilação (A/Ci) no tratamento 2 mM Fe micorrizados (Figura 9E; Tabela 11; Tabela 4 e Tabela 12), provavelmente através de um benefício do compartimento fúngico evitando a ação fitotóxica de Fe através de energia eficiente.

Tabela 4. Parâmetros fotossintéticos derivados do JIP-teste em plântulas da *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado, Controle-Micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Não micorrizado, 2 mM Fe de FeSO₄-Micorrizado com *C. entunicatum* em pH= 4,1± 0,2, aos 90 dias após a inoculação. Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe e 2 mM Fe de FeSO₄) seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=6).

	Controle		2 mM Fe	
	Não Micorrizado	Micorrizado	Não Micorrizado	Micorrizado
ABS/RC	5,41 ± 3,34 Aa	2,25 ± 0,43 Ba	5,74 ± 1,71 Aa	2,49 ± 0,80 Ba
TR₀/RC	2,39 ± 0,36 Aa	1,72 ± 0,25 Ba	2,46 ± 0,14 Aa	1,78 ± 0,39 Ba
DI₀/RC	3,02 ± 3,09 Aa	0,53 ± 0,19 Aa	3,27 ± 1,60 Aa	0,71 ± 0,42 Aa
RC/CS₀	2517,90 ± 784,59 Aa	2896,87 ± 253,74 Aa	2229,49 ± 678,79 Ba	3468,25 ± 962,04 Aa
ABS/CS₀	11563,50 ± 2834,30 Aa	6452,83 ± 809,96 Ba	12100,83 ± 2839,70 Aa	8413,00 ± 2794,01 Aa
TR₀/CS₀	5891,34 ± 1795,66 Aa	4951,79 ± 402,19 Aa	5475,79 ± 1645,11 Aa	6022,57 ± 1469,09 Aa
ET₀/CS₀	1911,31 ± 762,89 Aa	2189,77 ± 438,25 Aa	1638,33 ± 679,38 Aa	2580,25 ± 660,00 Aa
DI₀/CS₀	5672,16 ± 2632,04 Aa	1501,03 ± 418,29 Ba	6625,04 ± 1994,55 Aa	2390,43 ± 1444,56 Ba

(ABS/RC) - número total de fótons absorvidos pelas moléculas de ch1 de todos os centros de reação (RCs) divididos pelo número total de RCs ativos; (TR₀/RC) - a taxa máxima pela qual uma excitação é presa pelo RC. resultando na redução de Qa; (DI₀/RC) - a proporção da dissipação total de energia de excitação não atraída de todos os RCs em relação ao número de RCs ativos; (RC/CS₀) - concentração dos centros de reação ativos; (ABS/CS₀) - a quantidade de energia absorvida pelo sistema de antena PSII na área de amostra; (TR₀/CS₀) - a taxa de captura máxima de uma excitação que levará à redução de Qa medida em uma seção transversal de RCs ativos e inativos; (ET₀/CS₀) - reoxidação de Qa reduzida através do transporte de elétrons em uma seção transversal de RCs ativos e inativos; (DI₀/CS₀) - energia dissipada como calor. fluorescência ou transferidos para outros sistemas.

Análise multivariada de componentes principais (PCA)

A análise multivariada de componentes principais (PCA) mostrou que os tratamentos micorrizados influenciaram positivamente o crescimento da *S. terebinthifolius* RADDI, exceto a relação raiz: parte aérea (R:PA) (Figura 10A). Plântulas micorrizadas expostas a 2 mM Fe induziram a altura, diâmetro colo, número de folhas, enquanto no controle cresceu mais a massa seca da raiz (MSR), massa seca da parte aérea (MSPA) e área foliar.

Já para os parâmetros da nutrição mineral de plântulas micorrizadas expostas a 2 mM Fe, acumularam mais os macronutrientes Mg, K, P e S e o micronutriente Cu na parte aérea e S na raiz (Figura 10B).

De modo geral, plântulas *S. terebinthifolius* RADDI micorrizadas, modularam positivamente os parâmetros ecofisiológicos (Figura 7C; Figura S7). Plântulas micorrizadas expostas a 2 mM Fe aumentaram mais g_s , F_v/F_m , índice SPAD e C_i/C_a , enquanto no controle obtiveram maiores níveis em $iWUE$, P_i , A/C_i , A e E (Figura 10C).

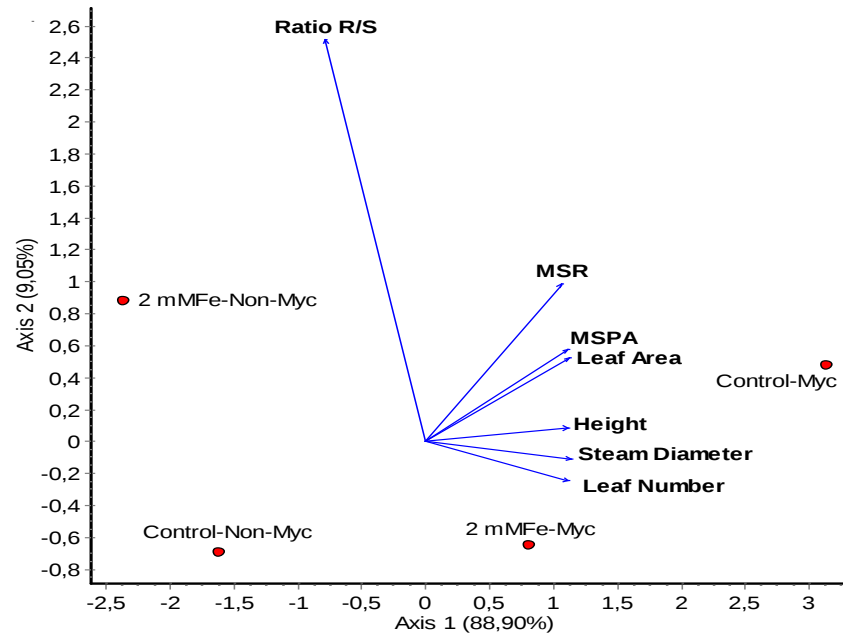
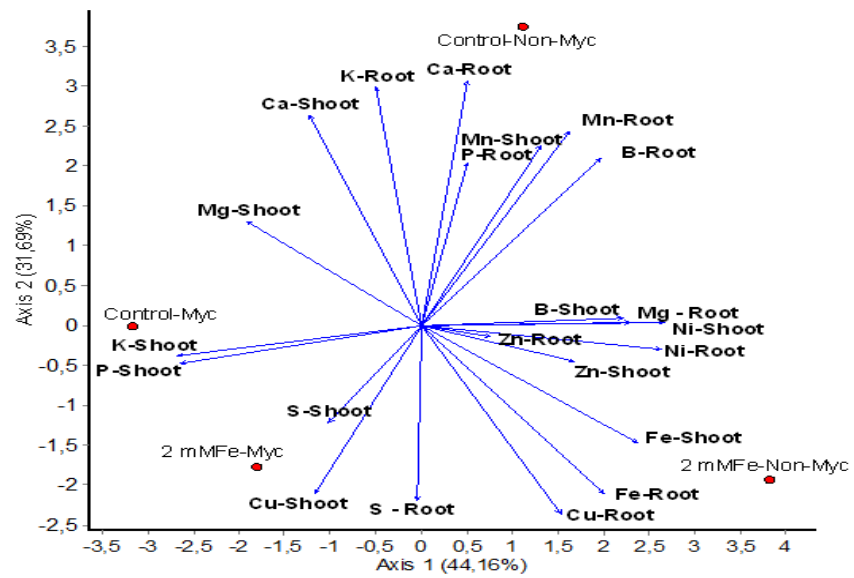
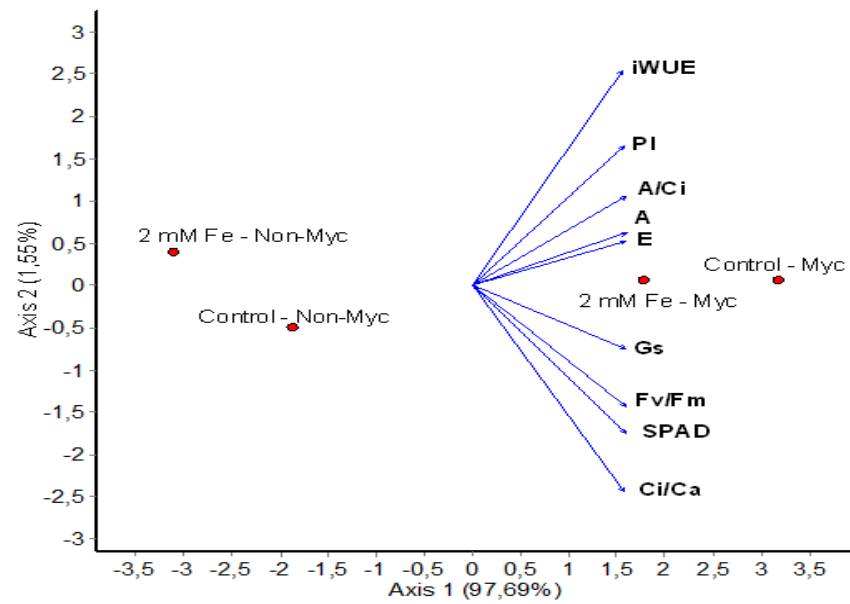
A**B****C**

Figura 10. Análise do componentes principais (PCA) das respostas de crescimento (A); teor de macro e micronutrientes da parte aérea e raiz (B) e parâmetros fisiológicos de plântulas da *S. terebinthifolius* RADDI, dos tratamentos Controle-Não micorrizado (Controle-Non-Myc), Controle-Micorrizado (Controle-Myc), 2 mM Fe de FeSO₄-Não micorrizado (2 mM Fe-Non-Myc), 2 mM Fe de FeSO₄-Micorrizado (2 mM Fe Myc) com *C. entunicatum* em pH= 4,1± 0,2, aos 90 dias após a inoculação (n=6).

4. DISCUSSÃO

Existem poucas informações sobre os efeitos do estresse de Fe na simbiose micorrízica arbuscular, especialmente quando submetidas em pH ácido no substrato. Vários metais são fungitóxicos, podendo restringir a germinação, crescimento de hifas e a colonização micorrízica (Nogueira 1996; Ibiang et al., 2018).

Em nosso estudo, raízes de aroeira inoculadas com *C. entunicatum* tratadas com 2 mM Fe, apresentaram reduções na porcentagem de colonização micorrízica, assim como limitações na formação das estruturas fúngicas. Nossos resultados estão de acordo com os de Zhang et al., (2012), que encontraram declínios nas taxas de colonização por *Glomus mosseae* nas raízes de arroz (*Oryza Sativa* L.) em solo ácido contaminado com outros metais, como Cu. De forma semelhante, Andrade et al., (2003), mostraram reduções não apenas na colonização por *G. macrocarpum*, mas também nas estruturas fúngicas, quando aplicaram Pb no substrato de *Glycine max*. Sendo assim, baseando-se nos resultados supracitados, pode-se inferir no presente estudo, que a presença de metais como Fe em pH ácido no substrato, aumentam sua disponibilidade (Wong et al., 1978), reduzindo a colonização micorrízica por interferência na formação estruturas FMA como (germinação de esporos, crescimento de hifas, vesículas e arbúsculos). Nossos resultados estão de acordo com outros trabalhos (He et al., 2007; Birhane et al., 2012; Yang et al., 2015; Ibiang et al., 2018).

A dependência micorrízica (DM) é uma medida do grau de resposta da planta hospedeira ao FMA em determinado nível de nutrientes (em particular P), tendo em conta as espécies de fungos que colonizam a raiz (Gerdemann 1975). Neste estudo, plântulas de aroeira nos diferentes tratamentos, revelaram alta dependência micorrízica. Siqueira et al., (1998) e Bati et al., (2015) mostraram que espécies pioneiras como a aroeira, por apresentarem características peculiares como raízes finas e baixo peso semente (semente pequena), ou seja, com reserva insuficiente para suportar o crescimento inicial, condições estas, que permitem obter elevada resposta a micorrização (elevada DM).

Um dos principais sintomas visuais nas folhas das plântulas sob estresse de Fe é o bronzeamento foliar (Lopes et al., 2000; Prusty et al., 2005). Nesse contexto, em nosso trabalho também observamos que, plântulas *S. terebinthifolius* RADDI quando submetidas ao estresse Fe não micorrizadas, apresentaram bronzeamento no limbo foliar. O bronzeamento foliar da aroeira não micorrizada com Fe, pode ser explicado pelo alto nível teor Fe nos tecidos (mesófilo foliar), levando à níveis fitotóxicos

(1174.34 $\mu\text{g Kg}^{-1}$) ou seja, (>500 ppm) (Pugh et al., 2002). Jucoski et al., (2016) avaliando plantas *Eugenia uniflora* L. submetidas ao excesso de Fe-EDTA a 2,0 mM Fe, em pH ácido, também mostraram sintomatologia típica de toxidez por Fe, caracterizada pelo bronzeamento foliar e menor crescimento destas plantas.

O excesso de Fe no solo pode ser desfavorável ao crescimento vegetal (Pugh et al., 2002). No entanto, existem muitas evidências da capacidade dos FMA em atenuar os efeitos tóxicos das altas concentrações de metais nas plantas, seja pelo efeito tamponante das hifas dos FMA (Göhre & Paszkowski 2006; Ferrol et al., 2016) como pela nutrição fosfatada (Jasper et al., 1988; Solís-Domínguez et al., 2012; Beltrano et al., 2013; Miransari 2017). Nossos resultados mostraram que plântulas micorrizadas apresentaram maior produção de biomassa do que as plântulas não micorrizadas quando foram submetidas ao excesso de Fe, podendo indicar plântulas mais tolerantes ao metal. De maneira semelhante, Bati et al., (2015) estudando crescimento três cultivares oliveira inoculadas por *Glomus* e submetidas ao Mn, observaram aumento da biomassa total e tolerância ao Mn (reduzindo a concentração na parte aérea, em relação à raiz) e incrementos nutricionais (notadamente o P). Similarmente, Solís-Domínguez et al., (2007) observaram aumentos da biomassa vegetal de *Prosopis juliflora* inoculadas com FMAs sendo submetidas aos rejeitos de mina com Pb e Zn, quando comparados ao tratamento não inoculado.

A utilização de parâmetros de crescimento vegetal integrado, tal como o IQD (Dickson et al., 1960), são importantes ferramentas para evidenciar os efeitos da micorrização nas plântulas, principalmente quando submetidas a algum tipo de estresse, pois é considerado como excelente indicador de qualidade vegetal (Petter et al., 2012; Lima et al., 2016).

No presente estudo, as plântulas de aroeira micorrizada apresentaram maior IQD do que as plântulas não micorrizadas, sendo isso reflexo da maior biomassa, altura e diâmetro do caule das mesmas. Dessa forma, nossos resultados indicam que o maior IQD encontrado nas aroeiras se devem principalmente a inoculação de FMA, corroborando com os resultados encontrados por Schoen et al., (2016) mostraram que plantas inoculadas FMA, apresentaram maior IQD na *S. terebinthifolius* RADDI, indicando que micorriza podem promover efeitos sinérgicos IQD produzindo assim, mudas com maior qualidade. Resultados semelhantes da alta eficiência dos FMA no aumento de qualidade de *Agave inaequidens* no IQD, também foram descritos por (Quiñones-Aguilar et al., 2016).

No presente estudo, *S. terebinthifolius* RADDI não micorrizadas e micorrizadas diferem na forma como ajustam a partição da biomassa entre a raiz e a parte aérea em resposta ao estresse por Fe. Plântulas não micorrizadas aumentam a proporção de biomassa alocada para as raízes, enquanto nas plântulas micorrizadas essa partição não diferiu significativamente entre plantas com e sem estresse por Fe. Resultados similares sobre a relação raiz:parte aérea (R:PA) de plantas não micorrizadas foram encontrados por Fageria et al., (2008) que estudando plantas de *Oryza sativa* L. tratadas com doses crescentes de Fe (0 a 2,86 mM) observaram aumento na proporção de biomassa radicular especialmente nas concentrações maiores que 1,43 mM Fe. Da mesma forma, Adamski et al., (2012) estudando *Ipomoea batatas*, essa relação R:PA aumentou quando as mesmas foram tratadas na concentração de 0,9 mM Fe, mas decresceu na concentração de 4,5 mM Fe. Nesse sentido, sabe-se que os vegetais possuem várias adaptações que lhes permitem sobreviver, e com frequência, desenvolver-se nos ambientes complexos onde vivem. Essas respostas sobre o aumentam a proporção de biomassa alocada para as raízes sobre são referidas como plasticidade fenotípica (Debat & David 2001) e representam mudanças não permanentes na morfologia, que podem ser revertidas se as condições prevalentes mudarem. Nesse sentido, a maior produção de biomassa nas raízes da aroeira não micorrizadas submetidas ao Fe, na relação R:PA, pode estar relacionado a maior superfície de troca e restrição da absorção Fe, de forma a proporcionar maior difusão do oxigênio molecular (oxidando Fe^{+2} para Fe^{3+}), produção ácidos orgânicos, compartimentalização vacuolar e barreira apoplástica para a parte aérea das plântulas (Bienfait et al., 1983; Hell & Stephan 2003; Li et al., 2016).

Por outro lado, a relação R:PA do tratamento micorrizado submetido ao estresse Fe, parece estar relacionado com a maior eficiência dos FMA na promoção da tolerância ao estresse, a partir da quelação, imobilização e tamponamento de metais via biomassa fúngica, conforme Göhre & Paszkowski (2006) reduzindo assim a entrada do Fe do substrato para as células corticais da raiz das plântulas da aroeira. Por exemplo, a glomalina, uma glicoproteína sintetizada por hifas de FMA, tem função quelante de metais, diminuindo disponibilidade em plântulas (Zhu 2001). Cabral et al., (2010) também constataram que o micélio de FMA obtidos *in vitro* obtiveram elevada capacidade de retenção de Cu, variando de 900 a 3,259 $\mu\text{g Cu g}^{-1}$ de micélio. Andrade et al., (2008) encontraram 728 mg kg^{-1} de Cd nas hifas externas de *G. intraradices*, o que sugere que estas atuam como uma barreira à absorção excessiva do metal.

No presente estudo, em termos de parte aérea, as plantas responderam à micorrização com mais folhas, maior área e tamanho foliar total. O efeito da micorrização é maior quando as plantas não estiveram no estresse por Fe. Apesar de haver redução significativa nos tratamentos micorrizados com estresse por Fe (limite do benefício dos FMA) comparados aos tratamentos micorrizados controle, é notório o excelente desempenho dos FMA nas plantas hospedeiras, conforme os resultados de Bati et al., (2015) e Siqueira et al., (2007). Tais resultados indicam o grande potencial das micorrizas na fitoextração de metais (Göhre & Paszkowski 2006; Ferrol et al., 2016), melhor crescimento, maior aproveitamento energético, aumento na fixação de CO₂ pela via fotossintética e nutrição mineral (especialmente P e N) nas plantas hospedeiras. Resultados relacionados ao crescimento no número folhas/área foliar/razão da área foliar:número folhas de plantas micorrizadas sob estresse metais pesados, foram demonstrados em outras espécies, como por Bati et al., (2015) com oliveira, Beltrano et al., (2013) com pimenta e Davies et al., (2002) com girassol.

De modo geral, toda a acumulação e distribuição dos teores de nutrientes da parte aérea e raiz da aroeira expostas a 2 mM Fe não micorrizadas e micorrizadas são apresentadas no presente estudo. A colonização micorrízica pode desempenhar um papel importante, controlando a absorção de Fe e outros nutrientes minerais, mantendo suprimentos adequados para a planta hospedeira. No presente estudo foram encontrados maior acumulação e distribuição dos teores de nutrientes como o N e P na parte aérea e raízes das plantas do tratamento Controle e 2 mM Fe micorrizados. Do mesmo modo, Bhattacharjee & Sharma (2012) investigando o efeito da inoculação de *G. fasciculatum* em *Cajanus cajan* L. também encontraram aumentos nos teores de P e clorofila por acréscimos de N nas plantas inoculadas em relação as não inoculados, sugerindo que a inoculação de *G. fasciculatum* tenha potencial biofertilizador nestas plantas. Além disso, estes autores sugerem que tais aquisições nutricionais melhoram os parâmetros fisiológicos conforme Lehto (1992), que trabalhando com *Picea sitchensis* micorrizadas em condições de estresse hídrico, a inoculação micorrízica arbuscular aumentou a condutância estomática (*g_s*) e taxa fotossintética (*A*) e a eficiência do uso da água (*iWUE*) nas folhas. O teor de N é geralmente mais elevado nos tecidos mais jovens, relacionado com aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas e clorofila, portando, sua acumulação adequada e distribuição, melhoram substancialmente a eficiência fotossintética. O aumento eficiência do uso da água (*iWUE*), também pode ser obtido a partir de melhorias da nutrição fosfatada (Guehl & Garbaye 1990), sendo que a maior absorção

de P pode aliviar a toxicidade do Fe a partir do efeito de diluição iônica devido a melhor crescimento de plantas (Pacovsky et al., 1986). Uma vez dentro células, acumulação e distribuição dos teores de fosfato pode formar complexos menos solúveis com o íon Fe, reduzindo a toxicidade (Foy 1984; Horst 1988). Da mesma forma, o teor Mg foi maior na parte aérea das plantas micorrizadas expostas a 2mM Fe. Sabe-se que o Mg (que constitui o átomo central da clorofila) é um elemento indispensável ao crescimento das plantas porque desempenha um papel essencial na biossíntese da clorofila, base da fotossíntese (Fraústo da Silva & Willians 1991); isso está em linha com observações sobre outras plantas (Birhane et al., 2012; Bati et al., 2015).

Um dos efeitos mais evidentes da micorrização no presente estudo foi que as plantas dos tratamentos controle e 2 mM Fe, redução drástica na concentração de Fe na parte aérea, quando comparados ao tecido radicular. De fato, as micorrizas arbusculares podem desempenhar um papel importante na adaptação das planta em solos ricos em Fe, não só pela melhoria da imobilização deste metal nas raízes mas também reduzindo a translocação do Fe da raiz para a parte aérea nas planta hospedeiras (Nogueira et al. 2007). No presente estudo, importante destacar que quando plantas dos tratamentos controle e 2 mM Fe estão micorrizadas, a redução no teor de Fe foi muito pronunciada. Esta redução pode ser explicada, pois FMA podem precipitar e quelar o Fe fora o micélio produzindo vários ácidos orgânicos, enzimas como a fosfatase ácida (Turnau & Dexheimer 1995) e a glomalina uma molécula insolúvel de alto teor molecular presente na parede celular das hifas (Rillig 2004; Bedini et al., 2009). De fato, os FMA contribuem na fitorremediação de solos contaminados por metais pesados, podendo auxiliar positivamente espécies sensíveis, seja pela fitoextração como fitoestabilização (Rillig 2004; Göhre & Paszkowski 2006). Variados estudos demonstram a eficiência micorrízica na redução efeitos prejudiciais de plantas submetidas metais pesados (Bi et al., 2003; Beltrano et al., 2013; Bati et al., 2015), indicando bom desempenho e viabilidade desta simbiose em plantas hospedeiras, tornando-as tolerantes à toxidez metais (Miransari 2017; Dawkins & Esiobu 2017) representando assim, uma proposta ecológica importante na resistência e resiliência não apenas para a *S. terebinthifolius* RADDI, mas também de outras espécies impactadas por metais pesados no solo. No entanto, sua eficiência depende relação fungo-planta-metal (Smith & Read 2008). Por outro lado, o teor de Fe nas plântulas dos tratamentos (Controle e 2 mM Fe) não micorrizados, mostram que as plântulas da aroeira tenderam a armazenar o Fe ao nível da raiz onde a concentração foi maior. Fato semelhante também foi observado por Araújo et al.,

(2014) estudando a influência do excesso Fe sobre a capacidade de acumulação deste metal nas plantas *Setaria parviflora* e *Paspalum urvillei*, que mostraram que estas plantas acumularam mais Fe na raiz quando comparados a parte aérea, indicando mecanismos comuns, porém pouco eficientes na aliviação do estresse (Jentschke & Godbold 2000).

A micorrização da *S. terebinthifolius* RADDI dos tratamentos Controle e 2 mM Fe obtiveram aumento significativo no índice SPAD, quando comparados aos tratamentos não micorrizados. Sabe-se que FMA possuem caráter biofertilizador em plantas hospedeiras (Marschner & Dell 1994; Clark & Zeto 2000; Davies et al., 2002; Alizadeh 2012). Neste estudo, plantas micorrizadas expostas a 2 mM Fe, obtiveram maior teor de N na parte aérea, quando comparadas ao tratamento não micorrizado, provavelmente pela maior biossíntese de clorofila a nas plantas hospedeiras (Bhattacharjee & Sharma 2012), aumento dos pigmentos acessórios do complexo antena (carotenoides e clorofila b) e redução de danos na ultraestrutura dos cloroplastos nas células do mesófilo (Mo et al., 2016). Tais características corroboram com os altos indicadores de clorofila pelo índice SPAD e eficiência na capacidade fotossintética (A) em plantas micorrizadas, mesmo sob estresse por Fe. Adicionalmente, a nicotianamina é mais sintetizada em raízes de plantas micorrizadas, podendo promover a quelação Fe (von Wirenet et al., 1999; Takahashi et al., 2003). Resultados semelhantes, são descritos por Clark & Zeto (2000) que correlacionaram o aumento de clorofila em plantas milho micorrizadas com maiores sínteses de nicotianamina/citrato contribuindo para maior quelação do Fe. Os resultados apresentados indicam, que plantas micorrizadas aumentam índice SPAD possivelmente por maior nutrição mineral (N/Mg), além P que é um constituinte do DNA nos cloroplastos e no equilíbrio químico do mesófilo foliar.

Em relação aos parâmetros de relações hídricas no presente estudo, foram observados que plantas micorrizadas dos tratamentos Controle e 2 mM Fe com e sem estresse de Fe, apresentaram maiores valores de condutância estomática (g_s), eficiência do uso da água (iWUE) e transpiração (E). Outros estudos também relataram aumentos sobre os mesmos parâmetros, induzidos por micorrizas nas plantas hospedeiras (Augé 2000; Ruiz-Lozano & Aroca 2010). Na verdade, os valores de condutância estomática (g_s) são geralmente maiores nas plantas micorrizadas do que plantas não micorrizadas, indicando que as plantas micorrizadas têm menor resistência à transferência de gases (CO_2) e água do interior das folhas para a atmosfera. O aumento significativo nos valores dos parâmetros supracitados

($gs/iWUE/E$) em plantas micorrizadas pode ser correlacionado com maior razão da área foliar:número folhas (tamanho folha total) refletindo positivamente nas respostas fotossintéticas (Augé 2000).

É importante verificar que apesar de o estresse por Fe diminuir o índice SPAD nos tratamentos controle e 2 mM Fe micorrizados, não houve diferença significativa entre os tratamentos na taxa fotossintética (A), indicando uma baixa interferência do Fe no poder redutor ferredoxina e desbalanço na transferência cíclica de elétrons da fase fotoquímica (PSII-I), provavelmente pelos benefícios nutricionais atribuídos pelos FMAs nestas plantas. Shamshiri & Fattahi (2016), estudando os efeitos dos FMA na atividade do PII em pistache (*Pistacia vera*) sob estresse salino, mostraram que as micorrizas melhoraram a biossíntese e funcionamento dos pigmentos moleculares do complexo antena via nutrição mineral (por exemplo Mg e N), eficiência na fotofosforilação (síntese de ATP) (por exemplo o P), transferência de elétrons do lado doador e aceitador do PSII, diminuição da dissipação de energia e aumento no desempenho fotossintético.

Sabe-se que a relação F_v/F_m é um bom indicador de estresse, podendo variar entre 0,7 a 0,8 em plantas não submetidas ao estresse (Bolhàr-NordenKampf et al., 1989), e no presente estudo, plântulas de aroeira não micorrizadas nos tratamentos Controle e 2 mM Fe mostram-se estressadas de cerca de 0,5 e 0,4, respectivamente, no entanto, quando micorrizadas foram aliviadas do estresse por Fe, de cerca de 0,81 e 0,79 respectivamente, provavelmente por mecanismos de tolerância do simbionte e consequentemente melhoras do aparato fisiológico, bioquímico e morfológico das plantas hospedeiras (Connolly & Guerinot 2002). Adicionalmente pode correlacionar tais melhoras nos tratamentos micorrizados, especialmente em 2 mM Fe para relação F_v/F_m , por aumentos significativos na concentração dos centros de reação ativos (RC/CS_0) dos parâmetros fotossintéticos derivados do JIP-teste, tornando-as fotoquimicamente mais eficientes.

Na fase bioquímica, pôde-se observar reduções significativas na eficiência da carboxilação (A/C_i) das plântulas micorrizadas tratadas com Fe, comparados aos tratamentos controle do presente estudo, indicando declínio na atividade ou no teor da Rubisco no estroma do cloroplasto. Gamalero et al., (2009) mostraram que modulações na atividade da Rubisco por estresse abiótico podem reduzir carboxilação (fixação de carbono - CO_2), mas que FMA podem superar tais distúrbios por incrementos nutricionais e evitando também ação fitotóxica de Fe a partir de energia eficiente.

A análise multivariada de componentes principais (PCA) no presente estudo, confirmou que a micorrização influenciou positivamente as respostas de crescimento, nutrição mineral (especialmente: Mg, K, P, S e Cu) e a fisiologia das plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Por exemplo, o incremento do P pelos FMA podem ser correlacionados com a maior produção de biomassa e área foliar, assim como o Mg e K por melhora no desempenho estomático, o S por eficiência na transferência de elétrons pelos centros Fe-S (eficiência fotossintética), além do Cu por ser um cofator-chave na fotossíntese, respiração, distribuição de carboidratos e síntese de ácido nucleico nas plantas hospedeiras (Bi et al., 2003; Bati et al., 2015; Shamshiri & Fattahi 2016; Miransari 2017). Portanto, o uso dos FMA com espécies vegetais fisiologicamente sensíveis como a aroeira, pode de fato, ser uma ferramenta de remediação ecologicamente imprescindível em ecossistemas antropizados por metais pesados.

5. CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstraram que a hipótese do presente estudo foi aceita, pois a simbiose do *C. entunicatum* associadas nas raízes da *S. terebinthifolius* RADDI, apresentaram efeitos positivos no crescimento, acumulação e distribuição de nutrientes na parte aérea e raízes e fisiologia das plântulas de aroeira submetidas à alta concentração de Fe no substrato.

C. entunicatum pode ser uma boa alternativa em programas de recuperação de ambientes contaminados por Fe, pois apresentou no presente estudo grande potencial de fitorremediação e fitoestabilização em substratos contaminados por Fe. Além disso, do aumento nutricional que os FMA propiciaram nas plântulas de aroeira, também observou-se a atuação como agente tamponante, diminuindo a absorção excessiva do Fe e o consequente favorecimento a planta hospedeira para seu desenvolvimento. A seleção de FMA naturais de ambientes contaminados por elementos-traço pode ser uma outra alternativa viável para o bom estabelecimento da vegetação e recuperação de áreas degradadas.

A partir dos resultados ecofisiológicos apresentados no presente estudo, a *S. terebinthifolius* RADDI pode ser indicada como bioindicadora de estresse por ser sensível ao Fe, evidenciado fisiologicamente pela relação F_v/F_m e morfológicamente por bronzeamento foliar nas plântulas de aroeira não micorrizadas e que todos estes fatores são superados pelos benefícios micorrízicos.

Estudos do papel da simbiose micorrízica na atenuação da toxidez causada pelo excesso de metais pesados em plântulas ainda são recentes, especialmente em ecossistemas costeiros no ES. Entretanto no presente estudo, informações valiosas já foram levantadas para auxiliar no entendimento desse efeito, mas ainda há muito que ser realizado em futuro próximo, sobretudo no entendimento dos mecanismos moleculares, desde a expressão/supressão de genes de plantas hospedeiras e FMA formando simbiose em condições de estresse de Fe.

6. REFERÊNCIAS

(De acordo com as normas da Mycorrhiza jornal - ISSN: 0940-6360)

- Adamski JM, Santos MP, Barbosa Filho CM (2012) Responses to excess iron in sweet potato: impacts on growth, enzyme activities, mineral concentrations, and anatomy. *Acta Physiologia Plantarum* 34:1827-1836.
- Alizadeh O (2012) A critical review on the nutrition role of arbuscular mycorrhizal fungi. *Jornal Elba Bioflux* 4(1):234-255.
- Andrade SAL, Abreu CA, Abreu MF, Silveira APD (2003) Interaction between lead, soil base saturation rate, and mycorrhiza on soybean development and mineral nutrition. *R. Bras. Ci. Solo* 27:945-954.
- Andrade SAL, Gratão PL, Azevedo RA, Silveira APD, Schiavinato MA, MAzzafera P (2010) Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. *Environ. Exper. Bot* 68:18-207.
- Andrade, SAL, Da Silveira, APD, Jorge RA, De Abreu MF (2008) Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza. *Inter. J. Phytoremediat* 10:1-13.
- Araújo TO, Freitas-Silva L, Santana BVN, Kuki KN, Pereira EG, Azevedo. AA, Silva LC (2014) Tolerance to iron accumulation and its effects on mineral composition and growth of two grass species. *Environ Sci Pollut Res* 21:2777–2784.
- Araújo TO, Freitas-Silva S, Santana BVN, Kuki KN, Pereira EG, Azevedo AA, Silva LC (2015) Morphoanatomical responses induced by excess iron in roots of two tolerant grass species. *Environ Sci Pollut Res* 22:2187–2195.
- Araus JL, Amaro T, Voltas J, Nakkoul H, Nachit MM (1998) Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Res* 55:209–223.
- Asghari H, Marschner P, Smith S, Smith F (2005) Growth response of *Atriplex nummularia* to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi at different salinity levels. *Plant Soil* 273:245–256.
- Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3–42.
- Bati CB, Santilli E, Lombardo L (2015) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and on micronutrient and macronutrient uptake and allocation in olive plantlets growing under high total Mn levels. *Mycorrhiza* 25:97–108.
- Becana M, Moran JF, Iturbe-Ormaetxe I (1998) Iron dependant oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stresses: Toxicity and antioxidants. *Plant and Soil* 201:137-147.

- Bedini S, Pellegrino E, Avio L, Pellegrini S, Bazzoffi P, Argese E, Giovannetti M (2009) Changes in soil aggregation and glomalin-related soil protein content as affected by the arbuscular mycorrhizal fungal species *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*. *Soil Biol. Biochem* 41:1491-1496.
- Beltrano J, Ruscitti M, Arango MC, Ronco M (2013) Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(1):123-141.
- Becana M, Moran JF, Iturb-Ormaetxe I (1998) Iron-dependent oxygen free radical generation is plant subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant and Soil* 3:137-147.
- Bhattacharjee S, Sharma GD (2012) Effect of Dual Inoculation of Arbuscular Mycorrhiza and Rhizobium on the Chlorophyll, Nitrogen and Phosphorus Contents of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.). *Advances in Microbiology* 2:561-564.
- Bi YL, Li XL, Christie P, Hu ZQ, Wong MH (2003) Growth and nutrient uptake of arbuscular mycorrhizal maize in different depths of soil overlying coal fly ash. *Chemosphere* 50:863–869.
- Bienfait HF, Bino RJ, van der Blik AM, Duivenvoorden JF, Fon JM (1983) Characterization of ferric reducing activity in roots of Fe-deficient *Phaseolus vulgaris*. *Jornal Physiologia plantarum* Volume 59:196–202.
- Birhane E, Sterck FJ, Fetene M, Bongers F, Kuyper TW (2012) Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. *Oecologia* 169:895–904.
- Bolhàr-Nordenkamp HR, Long SP, Baker NR, Öquist G, Schreibers U, Lechner EG (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology* 3: 497-514.
- Cabral L, Siqueira JO, Soares CRFS, Pinto JEB (2010) Retention of heavy metals by arbuscular mycorrhizal fungi mycelium. *Quim Nova* 33:25–29.
- Canton GC, Bertolazi AA, Cogo AJD, Eutrópio FJ, Melo J, Souza SB, Krohling CA, Campostrini E, Silva AG, Façanha AR, Sepúlveda N, Cruz C, Ramos AC (2016) Biochemical and ecophysiological responses to manganese stress by ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and in association with *Eucalyptus grandis*. *Mycorrhiza* 26:475–487.
- Cavalcante UMT, Maia LC, Melo AMM, Santos VF (2002b) Influência da densidade de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37(5):643–649.
- Cavalcante, UMT, Maia, LC, Costa CMC, Cavalcante AT, Santos VF (2002a) Efeito de fungos micorrízicos arbusculares, da adubação fosfatada e da esterilização do solo no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 26:1099–1106.

- Chen X, Zhou Z, Teng M, Wnag P, Zhou L (2015) Accumulation of three different sizes of particulate matter on plant leaf surfaces: effect on leaf traits. *Archives of biological sciences* 67(4):1257-1267.
- Clark R.B, Zeto SK (2000) Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal Plant Nutrition* 23(7):867-902.
- Clark RB (1975) Characterization of phosphates in intact maize roots. *J. Agric. Food Chem* 23:458-460.
- Clemens S, Aarts M, Thomine S, Verbruggen N (2013) Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends Plant Science* 18:92-99.
- Connolly EL, Guerinot NL (2002) Iron stress in plants. *Genome Biology* 3(8):1001–1024.
- Costa CMC, Cavalcante UMT, Goto BT, Santos VF, Maia LC (2005) Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40:225-232.
- Crane S, Dighton J, Barkay T (2010) Growth responses to and accumulation of mercury by ectomycorrhizal fungi. *Fungal Biology* 114:873-880.
- Cunningham SD, Ow DW (1996) Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology* 110:715-719.
- Dary M, Chamber-Pérez MA, Palomares AJ, Pejuelo E (2010) 'In situ' phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria. *Journal Hazardous Materials* 177:323-330.
- Davies FT, Puryear JD, Newton RJ, Egilla JN, Saraiva Grossi JA (2002) Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange. *Journal of plant nutrition* vol. 25 11, pp. 2389–2407.
- Dawkins K, Esiobu N (2017) Arbuscular and Ectomycorrhizal Fungi Associated with the Invasive Brazilian Pepper Tree (*Schinus terebinthifolius*) and Two Native Plants in South Florida. *Microbiol* 8:665-698.
- Debat V, David P (2001) Mapping phenotype: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends in Ecology and Evolution* 16:555–561.
- Dickson A, Leaf AL, Hosner JF (1960) Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chronicle* 36:10-13.
- Dueck AT, Visser WHO, Schat E (1986) Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinc-toxicity to grasses growing in zinc-polluted soil. *Soil Biology and Biochemistry* 18:331-333.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — Embrapa (1997) Manual de métodos de análises de solo. 2.ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura e do Abastecimento 212p.
- Fageria AB, Santos MP, Barbosa Filho CM (2008) Iron toxicity in lowland rice. *Journal of Plant Nutrition* 31:1676-1697.

- Ferrol N, Tamayo E, Vargas P (2016) The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. *Journal of Experimental Botany* 67:6253–6265.
- Foy CD (1984) Physiological effects of hydrogen, aluminium, and manganese toxicities in acid soils. In: Adams F (ed) *Soil acidity and liming*. American Society of Agronomy, Madison pp 57–97.
- Fraústo de Silva JJR, Williams RJP (1991) *The Biological Chemistry of the Elements*. Oxford: Clarendon Press 467–494.
- Fageria NK, Baligar VC, Wright RJ (1990) Iron nutrition of plant: an overview on the chemistry and physiology of its deficiency and toxicity. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 25:553-570.
- Gamalero E, Lingua G, Berta G, Glick BR (2009) Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Can. J. Microbiol* 55:501–514.
- Gaur A, Adholeya A (2004) Prospects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soils. *Current Science* 86:528-534.
- Gerdemann JW (1975) Vesicular arbuscular mycorrhiza. In: Torres JG, Clarkson DT eds. *The development and function of roots*, London, Academic Press p.575-591.
- Gerdemann JW, Nicolson TH (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc* 46:235-244.
- Giovannetti M, Mosse B (1980) An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots. *New Phytologist* 84:489-500.
- Godbold DL, Jentschke G, Winter S, Marschner P (1998) Ectomycorrhizas and amelioration of metal stress in forest trees. *Chemosphere* 36(4):757-762.
- Göhre V, Paszkowski U (2006) Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223:1115-1123.
- Grantz DA, Garnerb JHB, Johnson DW (2003) Ecological effects of particulate matter. *Environment International* 29:213–239.
- Guehl JM, Garbaye J (1990) The effect of ectomycorrhizal status on carbon dioxide assimilation capacity, water-use efficiency and response to transplanting in seedlings of *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. *Ann For Sci* 21:551–563.
- Guerra MJM, Barreiro ML, Rodriguez ZM, Rubalcada Y (2000) Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* RADDI. *Revista Cubana*, Havana 5:1:5-23.
- He ZQ, ChaoXing H, ZhiBin Z, ZhiRong Z, HuaiSong W (2007) Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 59:128–133.

- Hell R, Stephan W (2003) Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants 216: 541–551.
- Horst WJ (1988) The physiology of manganese toxicity. In: Graham RD, Hannam RJ, Uren NC (eds) Manganese in soil and plants. Kluwer Academic, Boston pp 175–188.
- Ibiang YB, Innami H, Sakamoto K (2018) Effect of excess zinc and arbuscular mycorrhizal fungus on bioproduction and trace element nutrition of Tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom). Soil Science and Plant Nutrition 3:345–357.
- Instituto Brasileiro de Mineração–Ibram D (2011) Information and analysis of the Brazilian mineral economy. Ibaram, Brasília Din Portuguese.
- Jackson ML (1965) Soil chemical analysis. New Jersey: Prentice Hall 498 p.
- Jasper DA, Robson AD, Abbott LK (1988) Revegetation in an Iron-ore Mine- Nutrient Requirements for Plant Growth and the Potential Role of Vesicular-arbuscular (VA) Mycorrhizal Fungi. Aust. J. Soil Res 26:497-507.
- Jentschke G, Godbold DL (2000) Metal toxicity and ectomycorrhizas. Physiologia Plantarum - Wiley Online Library 109:107-116.
- Jucoski GO, Cambraia J, Ribeiro C, Oliveira JÁ, Paula SO, Oliva MA (2013) Impact of iron toxicity on oxidative metabolism in young *Eugenia uniflora* L. plants. Acta Physiol Plant 35:1645–1657.
- Jucoski, GO, Cambraia J, Ribeiro C, Oliveira JA (2016) Excess iron on growth and mineral composition in *Eugenia uniflora* L. Revista Ciência Agronômica 47:720-728.
- Kabata-Pendias A, Pendias H (1992) Trace Elements in Soils and Plants, 2nd Edition, CRC Press, Boca Ratón 315pp.
- Kabata-Pendias A, Pendias H (2001) Trace elements in soils and plants. 3rd edition. CRC Press, Boca Raton, Florida 413 pp.
- Kalra YP (1998) Handbook of reference methods for plant analysis. Boca Raton, FL: CRC Press 300 p.
- Khan AG, Kuek C, Chaudhry TM, Khoo CS, Hayes WJ (2000) Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. Chemosphere 41:197-207.
- Klauber-Filho O (1999) Ecologia e atividade de fungos micorrízicos arbusculares em solo poluído com metais pesados 161p Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras.
- Krohling CA, Eutrópio FJ, Bertolazi AA, Dobbss LB, Campostrini E, Dias T, Ramos AC (2016) Ecophysiology of iron homeostasis in plants. Soil science and plant nutrition 62:39–47.
- Kuki KN, Oliva MA, Costa AC (2009) The Simulated Effects of Iron Dust and Acidity During the Early Stages of Establishment of Two Coastal Plant Species 196:287–295.

- Kuki KN, Oliva MA, Pereira EG, Costa AC, Cambraia J (2008) Effects of simulated deposition of acid mist and iron ore particulate matter on photosynthesis and the generation of oxidative stress in *Schinus terebinthifolius* Radii and *Sophora tomentosa* L. *Science of Total Environment* 403:207-214.
- Kuki KN, Oliva MA, Pereira EG, Costa AC, Cambraia J (2008) Iron ore industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation, *Environ Manage* 42:111-121.
- Landeweert R, Hoffland E, Finlay RD, Kuyper TW, Breemen N (2001) Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution* 16:248-254.
- Lehto T (1992) Mycorrhizas and drought resistance of *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. I. In conditions of nutrient deficiency. *New Phytol* 122:661–668.
- Lermen C, Mohr FBM, Alberton O (2015) Growth of *Cymbopogon citratus* inoculated with mycorrhizal fungi under different levels of lead. *Scientia Horticulturae* 186:239-246.
- Leyval C, Turnau K, Haselwandter K (1997) Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7:139–153.
- Li G, Kronzucker HJ and Shi W (2016) The Response of the Root Apex in Plant Adaptation to Iron Heterogeneity in Soil. *Front. Plant Sci* 7:344.
- Liao JP, Lin XG, Cao ZH, Shi YQ, Wong MH (2003) Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere* 50:847–853.
- Lima SL, Marimon-Junior BM, Tamiozzo S, Petter FA, Marimon BS, Abreu MF (2016) Biochar adicionado em Latossolo Vermelho beneficia o desenvolvimento de mudas de beterraba? *Comunicata Scientiae* 7:p. 97.
- Liu A, Hamel C, Elmi A, Costa C, Ma BL, Smith DL (2002) Concentrations of K, Ca and Mg in maize colonized by arbuscular mucorrhizal fungi under field conditions. *Can J Soil Sci* 82:271-278.
- Lopes AS, Oliva MA, Martinez CA (2000) Impacto das emissões de dióxido de enxofre e deposição de material particulado de ferro em espécies vegetais de restinga: avaliação ecofisiológica. In: *Ecotoxicologia - Perspectivas para o século XXI*. Espíndola, ELG, Paschoal CMR, Rocha O, Bohrer MBC, Oliveira Neto, A.L. (eds), RiMa Artes e Textos, São Carlos p 53-71.
- Lorenzi H (1992) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum pp.352.
- Lovett GM, Kinsman JD (1990) Atmospheric pollutant deposition to highelevation ecosystems". *Atmosph. Environ* 24:2:767-786.
- Lu N, Zhou X, Cui M, Yu M, Zhou J, Qin Y, Li Y (2015) Colonization with Arbuscular Mycorrhizal Fungi Promotes the Growth of *Morus alba* L. Seedlings under Greenhouse Conditions. *Forests* (6):734-747.

- Machado SR, Carmello-Guerreiro SM. (2001) Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* RADDI (Anacardiaceae). Acta Botanica Brasilica 2:189-195.
- Marschner H, Dell B (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil 159:89-102.
- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. Academic Express, London, ed.:889p.
- Miransari M (2017) Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Heavy Metal Tolerance in Plants. Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants 3:345-355.
- Mo Y, Wang Y, Yang R, Zheng J, Liu C, Li H, Ma J, Zhang Y, Wei C, Zhang X (2016) Regulation of Plant Growth, Photosynthesis, Antioxidation and Osmosis by an Arbuscular Mycorrhizal Fungus in Watermelon Seedlings under Well-Watered and Drought Conditions. Front Plant Sci 7:644.
- Mohiuddin K, Strezov V, Nelson PT, Stelcer E, Evans T (2014) Mass and element distributions of atmospheric particles nearby blast furnace and electric arc furnace operated industrial areas in Australia. Science of the Total Environment 487:323-334.
- Monni S, Uhlig C, Junttila O, Hansen E, Hynynen J (2001) Chemical composition and ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to aboveground element application. Environ. Pollut 112:417-426.
- Neves NR, Oliva MA, Centeno DC, Costa AC, Ribas RF, Pereira EG (2009) Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: Potential use in environmental risk assessment. Science of The Total Environment 407:3740-3745.
- Nogueira AV (1996) As micorrizas e o excesso de metais. In: SIQUEIRA, J.O. ed. Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas. Lavras, Universidade Federal de Lavras p.135-174.
- Nogueira MA, Nehls U, Hampp R, Poralla K, Cardoso JB (2007) Mycorrhiza and soil bacteria influence extractable iron and manganese in soil and uptake by soybean. Plant and Soil 298:273-284.
- Oliveira CRM, Oliva MA, Pereira EG (2007) Efeito do Material Particulado de Ferro no Teor de Pigmentos de *Schinus terebinthifolius* RADDI. Revista Brasileira de Biociências Porto Alegre 5:681-683.
- Pacovsky RS, Bethlenfalvay GJ, Paul EA (1986) Comparison between Pfertilized and mycorrhizal plants. Crop Sci 26:151-156.
- Pereira EG (2006) Efeitos fisiológicos e bioquímicos causados pela deposição de ferro particulado em *Clusia hilariana*, uma espécie de restinga. Dissertação de Mestrado. Universidade de Viçosa p.15-55.
- Petter FA, Madari BE, Soler MAS, Carneiro MAC, Carvalho MTM, Marimon-Junior BH, Pacheco LP (2012) Soil fertility and upland rice yield after biochar application in the Cerrado. Pesquisa Agropecuária Brasileira 47:699-706.

- Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161.
- Pouyu-Rojas E, Siqueira JO, Santos JGD (2006) Compatibilidade simbiótica de fungos micorrízicos arbusculares com espécies arbóreas tropicais. *R. Bras. Ci. Solo* 30:413-424.
- Prusty BAK, Mishra PC, Azeez PA (2005) Dust accumulation and leaf pigment content in vegetation near the national highway at Sambalpur. *Ecotoxi. Environ. Safety* 60:228-235.
- Pugh RE, Dick DG, Fredeen AL (2002) Heavy Metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) Contents of Plant Foliage near the Anvil Range Lead/Zinc Mine, Faro, Yukon Territory. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 52:273-279.
- Quiñones-Aguilar EE, Montoya-Martínez AC, Rincón-Enriquez G, Lobit P, López-Pérez L (2016) Effectiveness of native arbuscular mycorrhizal consortia on the growth of *Agave inaequidens*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 16 (4), 1052-1064.
- Rahmaty R, Khara J (2011) Effects of vesicular arbuscular mycorrhiza *Glomus intraradices* on photosynthetic pigments, antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and chromium accumulation in maize plants treated with chromium. *Turk J Biol* 35:51-58.
- Rajkumar M, Sandhya S, Prasad MNV, Freitas H (2012) Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology Advances* 30:1562-1574.
- Reyt G, Boudouf S, Boucherez J, Gaymard F, Briat JF. (2015) Iron and ferritin dependent ROS distribution impact *Arabidopsis* root system architecture. *Mol Plant* 8: 439–453.
- Ricachenevsky FK, Sperotto RA (2014) There and back again, or always there? The evolution of rice combined strategy for Fe uptake. *Front. Plant Sci.* 5:189.
- Rillig MC (2004) Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem. *Chemosphere* 740–754.
- Rocha DI, Silva LC, Pereira EG, Sant'Anna BF, Gontijo ER, Oliva MA (2014) Early detection of injuries in leaves of *Clusia hilariana* Schltdl. (Clusiaceae) caused by particulate deposition of iron *Revista Árvore*, Viçosa-MG, v.38, n.3, p.423-432.
- Rout GR, Sahoo S (2015) Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science* 3:1-24.
- Ruiz-Lozano JM, Aroca R (2010) Modulation of Aquaporin Genes by the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in Relation to Osmotic Stress Tolerance. *Aquaporin in AM Plants Under Osmotic Stress* 17:357–374.
- Ruscitti M, Arango M, Ronco M, Beltrano J (2011) Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Braz. J. Plant Physiol* 23(1): 15-25.

- Saggin-Junior OJ (1997) Micorrizas arbusculares em mudas de espécies arbóreas do sudeste brasileiro. Lavras: UFLA 120 p. (Tese- Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas).
- Santander C, Aroca R, Ruiz-Lozano JM, Olave J, Cartes P, Borie F, Cornejo P (2017) Arbuscular mycorrhiza effects on plant performance under osmotic stress. *Mycorrhiza* 345-378.
- Schoen C, Aumond JJ, Stürmer SL (2016) Efficiency of the On-Farm Mycorrhizal Inoculant and Phonolite Rock on Growth and Nutrition of *Schinus terebinthifolius* and *Eucalyptus saligna*. *Rev Bras Cienc Solo* 34:1-14.
- Shamshiri MH, Fattahi M (2016) Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Photosystem II Activity of Three Pistachio Rootstocks under Salt Stress as Probed by the JIP-test. *Journal of Plant Physiology* 63(1):101–110.
- Schiavo J A (2005) Revegetação de áreas degradadas pela extração de argila, com espécies micorrizadas de *Acacia mangium*, *Sesbania virgata* e *Eucalyptus camaldulensis*. 117f. Dissertação (Doutorado em Produção Vegetal) – UENF, Campos dos Goytacazes.
- Sheng M, Tang M, Chen H, Yang B, Zhang F, Huang Y (2008) Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18:287–296.
- Siedlecka A, Gardestrom P, Samuelson G, Oquist G, Gardestrom P (1997) Primary carbon metabolism in *Phaseolus vulgaris* plants under Cd/Fe interaction. *Plant Physiol. Biochem.* 35:951-957.
- Silva Junior JP, Cardoso EJBN (2008) Micorriza arbuscular em cupuaçu e pupunha cultivados em sistema agroflorestal e em monocultivo na Amazônia Central. *Pesq. Agropec. Bras* 41:819-825.
- Silva LC, Araújo TO, Martinez CA, Lobo FA, Azevedo AA, Oliva MA (2015) Differential responses of C3 and CAM native Brazilian plant species to a SO₂- and SPMFe-contaminated Restinga. *Environ Sci Pollut Res* 22:14007–14017.
- Silva LC, Oliva MA (2006) Responses of restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory. *Water Air and Soil Pollution* 175:241–256.
- Silva MA, Cavalcante UMT, Silva FSB, Soares SAG, Maia LC (2004) Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata*) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). *Acta Botanica Brasilica* 18:981-985.
- Silva S, Siqueira JO, Soares CRFS (2006) Mycorrhizal fungi influence on brachiariagrass growth and heavy metal extraction in a contaminated soil. *Pesq. agropec. bras* 12:1749-1757.
- Siqueira JO, Saggin-Júnior J, Flores-Aylas WW, Guimarães PTG (1998) Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. *Mycorrhiza* 7:293–300.
- Siqueira JO, Soares CRFS, Santos JGD, Schneider J, Carneiro MAC (2007) Micorrizas e a degradação do solo: caracterização, efeitos e ação recuperadora. *Tópicos em Ciências Solo* 5:219-306.

- Smith SE, Read DJ (2008) Mycorrhizal symbiosis. 3 ed. USA: Academic Press 815 p.
- Solís-Domínguez FA, Gonzalez-Chavez MC, Carrillo-Gonzalez R, RodriguezVazquez R (2007) Accumulation and localization of cadmium in *Echinochloa polystachya* grown within a hydroponic system. *J. Hazard Mater* 141:630-636.
- Solís-Domínguez FA, Valentín-Vargas A, Chorover J, Maier RM (2012) Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Plant Biomass and the Rhizosphere Microbial Community Structure of Mesquite Grown in Acidic Lead/Zinc Mine Tailings. *Sci Total Environ* 15:409(6):1009–1016.
- Strasser BJ, Strasser RJ (1995) Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test. In: Mathis, P. (Ed.), *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, vol. V. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands p. 977–980.
- Strasser RJ (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M et al. (Ed). *Probing photosynthesis: mechanism, regulation and adaptation*. London: Taylor & Francis p.443-480.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A (2004) Analysis of the fluorescence transient. In: George C., Papageorgiou C., Govindjee (eds.): *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. *Advances in Photosynthesis and Respiration Series*. Springer, Dordrecht 321–362.
- Takahashi M, Terada Y, Nakai I, Nakanishi H, Yoshimura E, Mori S (2003) Role of nicotianamine in the intracellular delivery of metals and plant reproductive development. *The Plant Cell* 15:1263–1280.
- Thach L B, Shapcott A, Schmidt S, Critchley C (2007) The OJIP fast fluorescence rise characterizes Graptophyllum species and their stress responses. *Photosynthesis Research Journal*, Amsterdam 94:423-436.
- Turnau K, Dexheimer J (1995) Acid phosphatase activity in *Pisolithus arrhizus* mycelium treated with cadmium dust. *Mycorrhiza* 5:205-211.
- Van Tichelen KK, Colpaert JV, Vangronsveld J (2001) Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. *New Phytologist* 150(1):203-213.
- von Wiren N, Klair S, Bansal S, Briat JF, Khodr H, Shioiri T (1999) Nicotianamine chelates both FeIII and FeII: implications for metal transport in plants. *Plant Physiology* 119:1107–1114.
- Weissenhorn I, Glashoff A, Leyval C, Berthelin J (1994) Differential tolerance to Cd and Zn of arbuscular mycorrhizal fungal spores isolated from heavy metal-polluted and unpolluted soils. *Plant Soil* 167:189-196.
- Wong MH, Chan KC, Choy CK (1978) The effect of the iron ore tailing on the costal environment of Tolo harbor, Hong Kong. *Environmental Reaserch* 15:342-356.
- Yang Y, Liang Y, Ghosh A, Song Y, Chen H, Tang M (2015) Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi status and heavy metal accumulation characteristics of tree species in a lead–zinc mine area: potential applications for phytoremediation. *Environ Sci Pollut Res* 324-345.

- Zangaro W, Nishidate FR, Camargo FRS, Romagnoli GG, Vandressen J (2005) Relationships among arbuscular mycorrhizas, root morphology and seedling growth of tropical native woody species in southern Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, London 21:529-540.
- Zhang XH, Wang YS, Lin AJ (2012) Effects of Arbuscular Mycorrhizal Colonization on the Growth of Upland Rice (*Oryza Sativa* L.) in Soil Experimentally Contaminated with Cu and Pb. *J Clinic Toxicol* 3:356-376.
- Zhu H, Bilgin M, Bangham R, Hall D, Casamayor A, Bertone P, Lan N, Jansen R, Bidlingmaier S, Houfek T, Mitchell T, Miller P, Dean RA, Gerstein M, Snyder M (2001) Global analysis of protein activities using proteome chips *Science* 14:293-323.

7. ANEXOS

Tabela 5. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação nos parâmetros de crescimento de plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) MSPA						
Interação	1	0,6783	0,6783	647,9	12,24	$P<0,0001$
Tratamentos	1	1,033	1,033	986,8	18,65	$P<0,0001$
Inoculação	1	3,821	3,821	3649	68,96	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,008375	0,001047			
b) MSR						
Interação	1	0,5517	0,5517	212,7	21,33	$P<0,0001$
Tratamentos	1	0,5415	0,5415	208,7	20,94	$P<0,0001$
Inoculação	1	1,472	1,472	567,5	56,93	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,02075	0,002594			
c) IQD						
Interação	1	0,04688	0,04688	1406	16,45	$P<0,0001$
Tratamentos	1	0,07208	0,07208	2162	25,3	$P<0,0001$
Inoculação	1	0,1657	0,1657	4970	58,15	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0002667	3,333e-005			
c) Razão R:PA						
Interação	1	1,161	1,161	17,36	26,02	$P=0,0031$
Tratamentos	1	0,7913	0,7913	11,83	17,73	$P=0,0088$
Inoculação	1	1,975	1,975	29,53	44,26	$P=0,0006$
Resíduos	8	0,5352	0,0669			

Tabela 6. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação nos parâmetros de crescimento de plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI (área foliar/ número de folhas/razão área). Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) Área foliar						
Interação	1	4039	4039	229	10,72	$P<0,0001$
Tratamentos	1	5081	5081	288	13,79	$P<0,0001$
Inoculação	1	28195	28195	1599	74,85	$P<0,0001$
Resíduos	20	352,8	17,64			
b) Número de folhas						
Interação	1	6,05	6,05	4,572	0,7973	$P=0,0450$
Tratamentos	1	22,68	22,68	17,14	2,989	$P=0,0005$
Inoculação	1	703,6	703,6	531,7	92,73	$P<0,0001$
Resíduos	20	26,47	1,323			
c) Razão área foliar:número folhas						
Interação	1	3,586	3,586	107584	10,15	$P<0,0001$
Tratamentos	1	5,522	5,522	165649	15,63	$P<0,0001$
Inoculação	1	26,23	26,23	786769	74,22	$P<0,0001$
Resíduos	20	0,0002667	3,333e-005			

Tabela 7. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, fator da linha e fator da coluna nos parâmetros de teor de macro e micronutrientes da parte aérea de plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) N						
Interação	1	0,04805	0,04805	39,22	26,93	P=0,0033
Fator da linha	1	0,00045	0,00045	0,367	0,2522	P=0,5772
Faor da coluna	1	0,125	0,125	102	70,07	P=0,0005
Resíduos	4	0,0049	0,001225			
b) P						
Interação	1	0,002113	0,002113	8,048	7,045	P=0,0470
Fator da linha	1	0,001513	0,001513	5,762	5,044	P=0,0743
Faor da coluna	1	0,02531	0,02531	96,43	84,41	P=0,0006
Resíduos	4	0,00105	0,0002625			
c) K						
Interação	1	0,1711	0,1711	318,3	0,828	P<0,0001
Fator da linha	1	1,488	1,488	2768	7,2	P<0,0001
Faor da coluna	1	19	19	35356	91,96	P<0,0001
Resíduos	4	0,00215	0,0005375			
d) Ca						
Interação	1	5,528	5,528	13401	48,58	P<0,0001
Fator da linha	1	5,695	5,695	13807	50,05	P<0,0001
Faor da coluna	1	0,154	0,154	373,4	1,354	P<0,0001
Resíduos	4	0,00165	0,0004125			
e) Mg						
Interação	1	0,6216	0,6216	3315	59,34	P<0,0001
Fator da linha	1	0,1326	0,1326	707,3	12,66	P<0,0001
Faor da coluna	1	0,2926	0,2926	1561	27,93	P<0,0001

Resíduos	4	0,00075	0,0001875
----------	---	---------	-----------

f) S

Interação	1	0,4325	0,4325	8649	40,92	$P<0,0001$
Fator da linha	1	0,3121	0,3121	6241	29,53	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,3121	0,3121	6241	29,53	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,0002	5e-005			

g) Fe

Interação	1	53746	53746	1672	7,642	$P<0,0001$
Fator da linha	1	375047	375047	11665	53,33	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	274340	274340	8533	39,01	$P<0,0001$
Resíduos	4	128,6	32,15			

h) B

Interação	1	2,387	2,387	3744	17,89	$P<0,0001$
Fator da linha	1	3,713	3,713	5824	27,83	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	7,239	7,239	11355	54,26	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,00255	0,0006375			

i) Cu

Interação	1	3,809	3,809	4761	9,79	$P<0,0001$
Fator da linha	1	16,25	16,25	20306	41,75	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	18,85	18,85	23562	48,45	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,0032	0,0008			

j) Mn

Interação	1	4684	4684	8326521	47,95	$P<0,0001$
Fator da linha	1	291	291	517347	2,979	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	4793	4793	8520346	49,07	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,00225	0,000562			

k) Zn

Interação	1	15,57	15,57	124546	30,55	$P<0,0001$
-----------	---	-------	-------	--------	-------	------------

Fator da linha	1	24,15	24,15	193210	47,4	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	11,23	11,23	89870	22,05	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,0005	0,000125			

Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, fator da linha e fator da coluna nos parâmetros de teor de macro e micronutrientes da raiz de plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) N						
Interação	1	0,01201	0,01201	16,29	43,54	P=0,0157
Fator da linha	1	0,01051	0,0105	14,25	38,11	P=0,0195
Faor da coluna	1	0,002113	0,002113	2,864	7,657	P=0,1658
Resíduos	4	0,00295	0,0007375			
b) P						
Interação	1	0,00405	0,00405	27	68,07	P=0,0065
Fator da linha	1	5e-005	5e-005	0,3333	0,8403	P=0,5946
Faor da coluna	1	0,00125	0,00125	8,333	21,01	P=0,0447
Resíduos	4	0,0006	0,00015			
c) K						
Interação	1	8,405	8,405	42025	46,04	P<0,0001
Fator da linha	1	9,245	9,245	46225	50,64	P<0,0001
Faor da coluna	1	0,605	0,605	3025	3,314	P<0,0001
Resíduos	4	0,0008	0,0002			
d) Ca						
Interação	1	0,2415	0,2415	1486	5,874	P<0,0001
Fator da linha	1	2,565	2,565	15785	62,39	P<0,0001
Faor da coluna	1	1,304	1,304	8025	31,72	P<0,0001
Resíduos	4	0,00065	0,0001625			
e) Mg						
Interação	1	2,268	2,268	45369	31,99	P<0,0001
Fator da linha	1	0,04805	0,04805	961	0,6776	P<0,0001

Faor da coluna	1	4,774	4,774	95481	67,33	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,0002	5e-005			

f) S

Interação	1	0,1201	0,1201	2401	12,59	$P<0,0001$
Fator da linha	1	0,7321	0,7321	14641	76,77	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,1013	0,1013	2025	10,62	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,0002	5e-005			

g) Fe

Interação	1	6878137	6878137	535307	9,7	$P<0,0001$
Fator da linha	1	51478217	51478217	4006410	72,6	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	12552380	12552380	976918	17,7	$P<0,0001$
Resíduos	4	51,4	12,85			

h) B

Interação	1	197,6	197,6	3952144	11,39	$P<0,0001$
Fator da linha	1	64,52	64,52	1290496	3,718	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	1473	1473	2946318	84,89	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,0002	5e-005			

i) Cu

Interação	1	1,394	1,394	27889	0,5428	$P<0,0001$
Fator da linha	1	244,4	244,4	4888521	95,14	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	11,09	11,09	221841	4,317	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,0002	5e-005			

j) Mn

Interação	1	1493	1493	5687764	19,51	$P<0,0001$
Fator da linha	1	698,1	698,1	2659320	9,123	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	5461	5461	2080246	71,36	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,00105	0,0002625			

k) Zn

Interação	1	351,8	351,8	4020432	64,91	$P<0,0001$
Fator da linha	1	172,5	172,5	1971604	31,83	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	17,67	17,67	201960	3,261	$P<0,0001$
Resíduos	4	0,00035	8,75e-005			

Tabela 9. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, fator da linha e fator da coluna nos parâmetros de teor ferro na parte aérea e raiz e relação Fe R: PA de plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) Fe-PA						
Interação	1	53746	53746	1672	7,642	$P<0,0001$
Fator da linha	1	375047	375047	11665	53,33	$P<0,0001$
Fator da coluna	1	274340	274340	8533	39,01	$P<0,0001$
Resíduos	4	128,6	32,15			
b) Fe - R						
Interação	1	6878137	6878137	535307	9,7	$P<0,0001$
Fator da linha	1	51478217	51478217	4006410	72,6	$P<0,0001$
Fator da coluna	1	12552380	12552380	976918	17,7	$P<0,0001$
Resíduos	4	51,4	12,85			
c) Razão Fe R:PA						
Interação	1	0,1397	0,1397	63,39	0,3788	$P=0,0013$
Fator da linha	1	36,22	36,22	16433	98,2	$P<0,0001$
Fator da coluna	1	0,5162	0,5162	234,2	1,4	$P=0,0001$
Resíduos	4	0,008815	0,002204			

Tabela 10. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação dos parâmetros fisiológicos (índice SPAD) das folhas de plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coefficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) Índice SPAD						
Interação	1	14,57	14,57	4,037	1,125	P=0,0582
Tratamentos	1	127,4	127,4	35,31	9,835	P<0,0001
Inoculação	1	1081	1081	299,7	83,47	P<0,0001
Resíduos	20	72,17	3,609			

Tabela 11. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação dos parâmetros fisiológicos (respostas fotossintéticas) das plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) A						
Interação	1	0,01197	0,01197	0,03633	0,01247	P=0,8511
Tratamentos	1	2,981	2,981	9,05	3,107	P=0,0079
Inoculação	1	83,15	83,15	252,4	86,66	P<0,0001
Resíduos	17	5,6	0,3294			
b) <i>gs</i>						
Interação	1	3,558e-005	3,558e-005	0,2732	0,212	P=0,6072
Tratamentos	1	0,001975	0,001975	15,16	11,77	P=0,0010
Inoculação	1	0,0126	0,0126	96,78	75,1	P<0,0001
Resíduos	19	0,002475	0,0001302			
c) <i>E</i>						
Interação	1	0,01785	0,01785	5,39	0,9196	P=0,0315
Tratamentos	1	0,1465	0,1465	44,22	0,9196	P<0,0001
Inoculação	1	1,731	1,731	522,6	89,17	P<0,0001
Resíduos	19	0,06293	0,003312			
d) <i>iWUE</i>						
Interação	1	0,02197	0,02197	0,1204	0,1957	P=0,7326
Tratamentos	1	0,001572	0,001572	0,00861	0,014	P=0,9271
Inoculação	1	7,876	7,876	43,17	70,14	P=0,0006
Resíduos	18	3,284	0,1825			
e) <i>A/Ci</i>						
Interação	1	1,1e-005	1,1e-005	4,293	1,241	P=0,0548
Tratamentos	1	4,882e-005	4,882e-005	19,06	5,512	P=0,0005
Inoculação	1	0,0008226	0,0008226	321,2	92,88	P<0,0001
Resíduos	16	4,098e-005	2,562e-006			

f) Ci/Ca

Interação	1	0,001607	0,001607	0,9509	1,005	P=0,3418
Tratamentos	1	0,01883	0,01883	11,14	11,78	P=0,0035
Inoculação	1	0,1034	0,1034	61,2	64,7	P<0,0001
Resíduos	19	0,03211	0,00169			

g) PI

Interação	1	0,2261	0,2261	4,514	2,824	P=0,0534
Tratamentos	1	0,3793	0,3793	7,571	4,737	P=0,0165
Inoculação	1	6,24	6,24	124,5	77,93	P<0,0001
Resíduos	13	0,6513	0,0501			

h) Fv/Fm

Interação	1	0,01014	0,01014	5,314	2,048	P=0,0359
Tratamentos	1	0,03243	0,03243	16,99	6,548	P=0,0009
Inoculação	1	0,4523	0,4523	237	91,33	P<0,0001
Resíduos	15	0,02862	0,001908			

Tabela 12. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, fator da linha e fator da coluna dos parâmetros fotossintéticos derivados do JIP-teste das plântulas de *S. terebinthifolius* RADDI. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) ABS/RC						
Interação	1	0,009829	0,009829	0,002637	0,00719	P=0,9596
Fator da linha	1	0,4895	0,4895	0,1313	0,3585	P=0,7209
Faor da coluna	1	61,49	61,49	16,49	45,03	P=0,0006
Resíduos	20	74,56	3,728			
b) TR₀/RC						
Interação	1	0,0003089	0,0003089	0,003351	0,00670	P=0,9544
Fator da linha	1	0,02537	0,02537	0,2752	0,551	P=0,6056
Faor da coluna	1	2,735	2,735	29,67	59,4	P<0,0001
Resíduos	20	1,844	0,09218			
c) DI₀/RC						
Interação	1	0,006653	0,006653	0,002163	0,00664	P=0,9634
Fator da linha	1	0,292	0,292	0,09493	0,2917	P=0,7612
Faor da coluna	1	38,29	38,29	12,45	38,24	P=0,0021
Resíduos	20	61,53	3,076			
d) RC/CS₀						
Interação	1	1108857	1108857	2,147	7,161	P=0,1584
Fator da linha	1	120108	120108	0,2325	0,7756	P=0,6349
Faor da coluna	1	3925532	3925532	7,599	25,35	P=0,0122
Resíduos	20	10331197	516560			
e) ABS/CS₀						
Interação	1	3036682	3036682	0,4946	1,208	P=0,4900
Fator da linha	1	9356259	9356259	1,524	3,723	P=0,2313
Faor da coluna	1	116120403	116120403	18,91	46,21	P=0,0003

Resíduos	20	122798459	6139923
----------	----	-----------	---------

f) TR_0/CS_0

Interação	1	3313727	3313727	1,607	7,292	P=0,2195
Fator da linha	1	643963	643963	0,3122	1,417	P=0,5825
Faor da coluna	1	231397	231397	0,1122	0,5092	P=0,7412
Resíduos	20	41253837	2062692			

g) ET_0/CS_0

Interação	1	660272	660272	1,58	5,858	P=0,2232
Fator da linha	1	20706	20706	0,04956	0,1837	P=0,8261
Faor da coluna	1	2233999	2233999	5,347	19,82	P=0,0315
Resíduos	20	8356146	417807			

h) DI_0/CS_0

Interação	1	6046	6046	0,001837	0,00341	P=0,9662
Fator da linha	1	5091015	5091015	1,547	2,878	P=0,2280
Faor da coluna	1	105984550	105984550	32,2	59,91	P<0,0001
Resíduos	20	65837974	3291899			

CAPÍTULO II

Uso combinado do silício e micorriza no alívio da fitotoxidez por ferro em substrato ácido nas plântulas de *Eucalyptus urograndis* sobre o crescimento, ionoma e fisiologia.

COLODETE, CARLOS MOACIR. Universidade Vila Velha - ES, 22 de Fevereiro de 2018. **Uso combinado do silício e micorriza no alívio da fitotoxidez por ferro em substrato ácido nas plântulas de *Eucalyptus urograndis* sobre o crescimento, ionoma e fisiologia.** Orientador Brasileiro: Dr. Carlos Eduardo Tadokoro (UVV). Coorientador Brasileiro: Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UENF). Coorientador Estrangeiro: Dra. Cristina Maria Nobre Sobral de Vilhena da Cruz Houghton (FCUL).

RESUMO

O Fe é um dos principais poluentes emitidos pelas atividades de mineração e em baixo pH no solo leva a níveis fitotóxicos. Das espécies florestais, o *E. urograndis* é uma das mais cultivadas no Brasil. O setor tem grande importância econômica, social e ambiental no estado do ES. Nesse contexto, torna-se iminente a necessidade de alternativas inovadoras e sustentáveis. Nossa hipótese é que uso combinado do Si e *C. entunicatum* alivia a fitotoxidez do Fe no *E. urograndis* no substrato ácido. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do uso combinado do Si e *C. entunicatum* (isolado SCT101A) no alívio da fitotoxidez por Fe nas respostas de crescimento, ionoma e fisiologia. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, constando oito tratamentos: Controle não micorrizado; Controle micorrizado; 1,5 silicato de potássio ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) não micorrizado; 1,5 $K_2SiO_3 \cdot H_2O$ micorrizado; 6 mM de sulfato ferroso ($FeSO_4$) não micorrizado; 6 mM de $FeSO_4$ micorrizado; 6 mM de $FeSO_4$ + 1,5 $K_2SiO_3 \cdot H_2O$ não micorrizado; 6 mM de $FeSO_4$ + 1,5 ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) micorrizado, com

cinco repetições (n=40). Todos os oito tratamentos foram utilizados solução nutritiva de Hoagland $\frac{1}{4}$ da força iônica (FI), ajustados para pH=3. O exedente de K do ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) foi subtraído e o nitrato foi suplementado com ácido nítrico diluído. Foram utilizados substrato autoclavados de areia:terra vegetal 1:1 (v/v). A inoculação dos FMA foram realizados no transplântio, utilizando-se o inóculo *C. entunicatum* e as plântulas avaliadas aos 120 dias após inoculação. Nossos resultados demonstraram que a hipótese do presente estudo foi aceita. *E. urograndis* micorrizados do tratamento (6Fe + 1,5 Si) aumentaram as respostas de crescimento: Índice de Qualidade Dickson (IQD), tamanho foliar e fortalecimento do caule. *C. entunicatum* (isolado SCT101A) pode de fato “ampliar” a aliviação dos efeitos tóxicos do Fe nas raízes das plantas hospedeiras, pelo seu efeito tamponante. Foram encontrados maiores teores Si nos tratamentos micorrizados. O tratamento (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados, foram maiores nos teores na parte aérea para N, P, Ca e Mg comparando-se ao controle não micorrizado. Plântulas *E. urograndis* não micorrizadas se comparadas ao controle, foram maiores para o índice SPAD (1,5 Si e 6 Fe + 1,5 Si). Foram observados reduções drásticas no teor de Fe na parte aérea ($4473,68 \text{ mg Kg}^{-1}$), se comparados ao sistema radicular ($117,82 \text{ mg Kg}^{-1}$) nos tratamentos (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados. Respostas similares ocorreram na parte aérea para outros metais como, Cu ($7,25 \text{ mg Kg}^{-1}$), Zn ($30,94 \text{ mg Kg}^{-1}$), Al ($105,29 \text{ mg Kg}^{-1}$), Se ($3,79 \text{ mg Kg}^{-1}$) e Ni ($1,29 \text{ mg Kg}^{-1}$), quando comparados ao sistema radicular para Cu ($16,00 \text{ mg Kg}^{-1}$), Zn ($130,23 \text{ mg Kg}^{-1}$), Al ($27,01,67 \text{ mg Kg}^{-1}$), Se ($20,20 \text{ mg Kg}^{-1}$) e Ni ($4,54 \text{ mg Kg}^{-1}$) nos tratamentos (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados, respectivamente. Os resultados fisiológicos mostraram que plântulas de *E. urograndis* dos tratamentos (6Fe + 1,5 Si) aumentaram A, iWUE, A/Ci, Ci/Ca, evidenciando o benefício do silício na redução dos efeitos do Fe na fisiologia do eucalipto. Foram observados declínios no PSII (Fv/Fm) no tratamento 6mM Fe não micorrizado, indicando efeito fotoinibitório e nos outros tratamentos não micorrizados

e micorrizados valores acima dos indicadores, mostrando melhora deste fotossintema. Na fase bioquímica aumentou para A/C_i , indicando melhoras na atividade ou no teor da Rubisco. Portanto, foi demonstrado que a associação Si-FMA de fato constitui um modelo-chave na redução dos efeitos negativos do Fe sobre em plântulas de *E. urograndis*.

Palavras chaves: Espécie arbórea, contaminação por metais, tecnologia ecológica, mitigação estresse por ferro.

ABSTRACT

COLODETE, CARLOS MOACIR. University of Vila Velha – ES, February 22, 2018. **Combined use of silicon and mycorrhiza in the alleviation of iron phytotoxicity on acidic substrate in *Eucalyptus urograndis* seedlings on growth, ionoma and physiology.** Brazilian Advisor: Dr. Carlos Eduardo Tadokoro (UVV), Brazilian Co-advisor: Dr. Alessandro Coutinho Ramos (UENF) and Foreign Co-advisor: Dra. Cristina Maria Nobre Sobral de Vilhena da Cruz Houghton (FCUL).

The Fe and one of the major pollutants emitted by mining activities and low pH in the soil leads to phytotoxic levels. Of the forest species, *E. urograndis* is one of the most cultivated in Brazil. The sector has great economic, social and environmental importance in the state of ES. In this context, it becomes imminent the need for innovative and sustainable alternatives, aiming to reduce the negative effects of Fe in these species. Our hypothesis is that combined use of Si and *C. entunicatum* (SCT101A) alleviates the phytotoxicity of Fe in *E. urograndis* on acid substrates. The objective of this work was to evaluate the effects of the combined use of Si and AMF in the alleviation of Fe phytotoxicity in growth, ionoma and physiology responses. The experiment was conducted in a greenhouse, consisting of eight treatments: Non-mycorrhizal control; Mycorrhized control; 1.5 potassium silicate ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) not micorrizado; 1.5 $K_2SiO_3 \cdot H_2O$ micorrizado; 6 mM of ferrous sulfate ($FeSO_4$) non-micorrizado; 6 mM of mycorrhized $FeSO_4$; 6 mM $FeSO_4$ + 1.5 $K_2SiO_3 \cdot H_2O$ non-mycorrhizal, 6 mM $FeSO_4$ + 1.5 $K_2SiO_3 \cdot H_2O$ mycorrhizal, with five replicates (n=40). In all eight treatments, the nutrient solutions used were Hoagland $\frac{1}{4}$ ionic strength (IF) and adjusted to pH=3. Autoclaved sand substrate was used: 1:1 (v/v) soil. The inoculation of the AMF was carried out in the transplanting, using the *C. entunicatum* inoculum and the seedlings evaluated at 120 days after inoculation. Our results demonstrated that the hypothesis of the present study was accepted. Mycorrhizal

eucalyptus (6Fe + 1,5 Si) increased the growth parameters: Dickson Quality Index (DQI), shoot dry weight, leaf size and stem strengthening in the shoot and that *C. entunicatum* can "amplify" the effects alleviation toxic effects of this metal on the roots of host plants due to their buffering effect. Higher Si levels were found in all mycorrhizal treatments. Mycorrhizal treatment seedlings (6 Fe + 1,5 Si) were higher in the contents in the aerial part for N, P, Ca and Mg, compared to the non-mycorrhized control. Non-mycorrhizal eucalyptus seedlings compared to the control, were higher for the SPAD index (1.5 Si and 6 Fe + 1.5 Si). There were drastic reductions in Fe content in the aerial part (4473.68 mg kg⁻¹), compared to the root system (117.82 mg kg⁻¹) in mycorrhized treatments (6 Fe + 1,5 Si). Similar responses occurred in the aerial part for Cu (7.25 mg Kg⁻¹), Zn (30.94 mg Kg⁻¹), Al (105.29 mg Kg⁻¹), Si (3.79 mg Kg⁻¹) and Ni (1.29 mg Kg⁻¹), when compared to the root system for Cu (16.00 mg Kg⁻¹), Zn (130,23 mg Kg⁻¹), Al (27,01,67 mg Kg⁻¹ 1), Si (20.20 mg Kg⁻¹) and Ni (4.54 mg Kg⁻¹) in mycorrhized treatments (6 Fe + 1,5 Si), respectively. The physiological results showed that seedlings of the treatments (6Fe + 1,5 Si) increased A, iWUE, A/Ci, Ci/Ca, evidencing the benefit of silicon in reducing the effects of Fe on eucalyptus physiology. A decrease in PSII (Fv/Fm) was observed in 6mM Fe non-mycorrhizal treatment, indicating photoinhibitory effect and in the other non-mycorrhized and mycorrhized treatments, values above the indicators, showing improvement of this photosynthetic. In the biochemical phase it increased to A/Ci, indicating improvements in the activity or content of Rubisco. Therefore, it has been demonstrated that the association Si-AMF in fact constitutes a key model in reducing the negative effects of Fe on *E. urograndis* seedlings.

Keywords: Tree plant, metal contamination, ecological technology, iron stress mitigation.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente a contaminação por metais pesados é um problema global e crescente, sendo responsável por sérios impactos a biodiversidade, dificultando o estabelecimento e desenvolvimento vegetacional (Kuki et al., 2008; Araújo et al., 2015).

O Fe é um dos elementos abundantes no solo e um dos principais poluentes emitidos pelas atividades de mineração e beneficiamento de minério (Neves et al., 2009; Mohiuddin et al., 2014). Quando o Fe é ressuspenso na atmosfera, se acumula na vegetação (Grantz et al., 2003) e solo (Clemens et al., 2013), causando efeitos negativos nos vegetais (Wong et al., 1978; Lopes et al., 2000; Rocha et al., 2014). Sabe-se que a disponibilidade de Fe é afetada pelo pH (Ricachenevsky & Sperotto 2014). Nesse sentido, a acidez do solo causada por chuvas ácidas, torna o Fe altamente disponível a absorção pela raiz (Hell & Stephan 2003), podendo levar seu acúmulo a níveis fitotóxicos nos tecidos vegetais (Lopes et al., 2000; Pugh et al., 2002).

E. urograndis é a principal espécie do Setor Florestal, apresentando grande relevância no mercado capixaba, brasileiro e mundial (Prinsen et al., 2012). Estudos anteriores indicaram que o eucalipto estabelecidos em regiões costeiras no Brasil sob influência negativa das atividades de processamento de minério de Fe, mostraram reduções drásticas na ecofisiologia (Kuki et al., 2009) e consequentemente no Setor Florestal (Chichorro et al., 2017).

A importância desse setor no Brasil em termos econômicos, sociais e ambientais pode ser analisado a partir da verificação de seus principais indicadores como a área florestal plantada, o valor bruto de produção, a geração de impostos, o valor das exportações e os empregos diretos e indiretos (Abraf 2013; Ibá 2016; Chichorro et al., 2017). Das espécies florestais plantadas, o *E. urograndis* encontra-se como uma das mais cultivadas no Brasil (Rezende & Oliveira (2013). No ES, ocupa o 6º lugar em área plantada, dos quais cerca de 80% são destinados à produção de celulose (Chichorro et al., 2017).

Nesse contexto, torna-se iminente a necessidade de alternativas inovadoras e ecologicamente sustentáveis, objetivado reduzir os efeitos negativos do Fe nestas espécies socioeconomicamente importantes, tal como *E. urograndis*.

É amplamente aceito que o Si é benéfico no crescimento das plantas (Epstein, 1999; Dakora e Nelwamondo, 2003) e no alívio do estresse de metais pesados

(Marschner 1995; Liang et al., 2007; Ma & Yamaji 2008; da Silva et al., 2015), incluindo o Fe^{2+} (Fu et al., 2012). Accioly et al., (2009) mostraram que silicato amenizou a toxidez de metais pesados em mudas de eucalipto. A redução da fitotoxidez por metais, depende da espécie de planta e pode estar relacionado a diferentes mecanismos (Ma & Takahashi 2001; Ma 2004). Trabalhos adicionais sobre mecanismos de tolerância a metais pesados em plantas pelo Si foram relatados por (Takahashi et al., 1990; Wu et al., 2013).

Adicionalmente, microrganismos do solo podem promover outras formas de tolerância nas plantas sob alta disponibilidade de Fe (Landeweert et al., 2001; Crane et al., 2010; Lermen et al., 2015). Deste modo, os FMA são muito importantes, pois conferem à planta hospedeira um efeito fitoprotetor aos níveis de toxidez por Fe, imobilizando-os no solo e impedindo que sejam translocados da raiz para parte aérea (Khan et al., 2000; Rillig 2004; Göhre & Paszkowski 2006). De fato, a associação mutualística entre FMA em plantas hospedeiras, induzem a resistência aos estresses bióticos e abióticos (Augé 2001; Santander et al., 2017), incrementos na absorção nutrientes minerais na rizosfera (Marschner & Dell 1994, 1995) incluindo o Si (Frew et al., 2017) e na atividade fotossintética (Davies et al., 2002; Beltrano et al., 2013).

Sendo assim, pesquisas envolvendo espécies florestais importantes como do gênero *Eucalyptus*, localizadas em regiões costeiras no Brasil sob influência das atividades de processamento de minério de Fe são escassos, principalmente quando associarmos Si-FMA, podendo de fato constituir um modelo-chave na redução dos efeitos negativos do Fe sobre em plantas (Salim et al., 2013; Garg & Bhandari 2016; Frew et al., 2017).

Nossa hipótese é que uso combinado do Si e *C. entunicatum* alivia a fitotoxidez do Fe nas plântulas de *E. urograndis* em substrato ácido. Para testar esta hipótese delineada, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do uso combinado do silício e micorriza no alívio da fitotoxidez por ferro em substrato ácido em plântulas de eucalipto nas respostas de crescimento, ionoma e fisiologia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Materiais vegetais e inóculos de FMA

As sementes do eucalipto (*E. urograndis*), foram adquiridas em casa comercial (Sementes Caiçara - Lote: 150 - Registro: 22293).

O inóculo micorrízico *C. entunicatum* (Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schussler (isolado SCT101A), composto por esporos fúngicos, hifas e raízes de *Brachiaria brizanta* colonizadas, foi obtido Coleção Internacional de Cultura de Glomeromycota (CICG), da Universidade Regional de Blumenau (Santa Catarina, Brasil) (<https://www.furb.br/cicg>). A densidade esporos foi verificada, realizando-se a extração de 20 mL do inóculo, conforme metodologia de Gerdemann & Nicolson (1963). A densidade aproximadamente obtida foi 307,6 esporos/cm³.

Delineamento experimental, condições crescimento e inoculação micorrízica

O experimento foi realizado em um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), constando de oito tratamentos: 1) Controle não micorrizado (Controle-Não Mic); 2) Controle micorrizado (Controle-Mic); 3) 1,5 silicato de potássio ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) não micorrizado (1,5 Si-não Mic); 4) 1,5 silicato de potássio ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) micorrizado (1,5 Si-Mic); 5) 6 mM de sulfato ferroso ($FeSO_4$) não micorrizado (6 mM Fe-Não Mic); 6) 6 mM de $FeSO_4$ micorrizado (6 mM Fe-Mic); 7) 6 mM de $FeSO_4$ + 1,5 silicato de potássio ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) não micorrizado (6 mM Fe + 1,5 Si-não Mic); 8) 6 mM de $FeSO_4$ + 1,5 silicato de potássio ($K_2SiO_3 \cdot H_2O$) micorrizado (6 mM Fe+1,5 Si-Mic), com cinco repetições (n=40). Em todos os oito tratamentos, as soluções nutritivas utilizadas foram de Hoagland $\frac{1}{4}$ da força iônica (FI) Hoagland & Aron (1938) e o pH foi ajustado para pH=3.

As sementes de *E. urograndis* utilizadas no experimento passaram por um processo de desinfestação de superfície com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos, e posteriormente com álcool 70% por 3 minutos. Após a esterilização, sementes foram semeadas em bandejas, contendo areia quartzo 12/20 previamente autoclavadas a 121°C, durante 60 minutos por três vezes, com um intervalo de 24 horas entre cada uma delas. O processo de germinação das mudas foi realizado em câmara de crescimento (16/8h luz/escuro), com intensidade luminosa de 350 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$, temperatura de 25±1°C e 70% umidade, durante 30 dias. Após 30 dias de germinação

as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 500 mL, contendo os substratos previamente autoclavados compostos de areia:terra vegetal na proporção 1:1 (v/v).

A inoculação dos FMA foram realizadas no transplântio, aplicando-se 20 mL do inóculo *C. entunicatum*, 3cm abaixo da superfície dos substratos presentes nos vasos. As plântulas não inoculadas (Controle), receberam quantidade equivalente ao inoculante, porém do mesmo substrato usado no experimento. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação por 120 dias após inoculação (d.a.i), no campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro (RJ). Para regulação do pH das soluções em todos tratamentos, foram utilizados pHmetro portátil, com adição de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ ou hidróxido de potássio 0,1 mol L⁻¹. A solução 6mM FeSO₄ [Sigma - PM: 278,03] foi obtida a partir solução estoque (SE) (27,83g FeSO₄ em 100 mL água destilada), onde retirava-se (6 mL da SE em 1000 mL água destilada), sendo esta, considerada solução para aplicações.

Todas plântulas de *E. urograndis* foram submetidas à irrigação uniforme com solução nutritiva de Hoagland ¼ da força iônica [Hoagland & Aron 1938) em pH=3, mantendo o substrato próximo a capacidade campo. As concentrações da solução nutritiva foram calculadas e balanceadas ¼ força iônica de Hoagland (Hoagland & Aron 1938), para as duas soluções utilizadas nos dois tratamentos (mM): 3,5 N-NO₃; 0,25 N-NH₄; 0,25 P; 1,5 K; 0,51 S; 1,00 Ca; 0,5 Mg. O Si foi adicionado como silicato de potássio (K₂SiO₃.H₂O) à solução nutritiva. O exedente de K introduzido pelo silicato de potássio foi subtraído e o nitrato foi suplementado com ácido nítrico diluído, mantendo as mesmas concentrações dos nutrientes da solução Controle.

Durante 30 dias (90-120 dias) e três vezes por semana, cada vaso contendo uma plântula *E. urograndis* inoculada ou não, foram regados com 50 mL de solução nutritiva de Hoagland ¼ da força iônica [Hoagland & Aron 1938) para o tratamento (Controle); 50 mL de solução nutritiva de Hoagland ¼ da força iônica [Hoagland & Aron 1938) + 1,5 silicato de potássio (K₂SiO₃.H₂O) para o tratamento (1,5 Si); 50 mL de solução nutritiva de Hoagland ¼ da força iônica [Hoagland & Aron 1938) + 6 mM de sulfato ferroso (FeSO₄) para tratamento (6 Fe) e 50 mL de solução nutritiva de Hoagland ¼ da força iônica [Hoagland & Aron 1938) + 6 mM de sulfato ferroso (FeSO₄) + 1,5 silicato de potássio (K₂SiO₃.H₂O) para tratamento (6 Fe + 1,5 Si), mantendo todas as soluções em pH=3. Os intervalos dos dias das aplicações das soluções nos

tratamentos, todos os vasos foram regados com água destilada em pH=3, mantendo-se capacidade campo.

Avaliação das características de crescimento da eucalipto e o Índice de Qualidade de Dickson (IQD)

Aos 120 d.a.i, foram avaliados a altura das plântulas de *E. urograndis* em centímetro (cm), com auxílio de trena, da base caule ao ápice foliar; o número de folha (unidade), pela contagem dos órgãos; o diâmetro do caule em milímetro (mm), utilizando paquímetro digital (Digital Caliper, USA), a 10 cm solo. Na desmontagem experimental, as plântulas foram divididas parte aérea e raiz, sendo área foliar em centímetro quadrado (cm²) avaliada imediatamente, utilizando medidor área bancada eletrônico, modelo LI-3100C (LI-COR® Ambiental - LI-COR Biosciences). As partes aéreas e as raízes das plântulas, foram postas em sacos de papel individualmente identificados e secos por 72h em estufa microprocessada de circulação forçada de ar (Q314M-Quimis) a 75°C até biomassa constante. Por meio de pesagem em balança analítica precisão (AUW220D-Shimadzu), foi determinada massa seca da raiz (MSR) (g) e massa seca da parte aérea (folha/caule) (MSPA) (g), bem como a relação raiz/parte aérea (g).

O IQD foi obtido conforme fórmula de (Dickson et al., 1960), onde em que MST (g) = massa seca total; A (cm) = altura da plântulas até a gema apical; DC (mm) = diâmetro do caule; MSPA (g) = massa seca da parte aérea, e MSR (g) = massa seca da raiz, conforme a equação (1):

$$\text{IQD (\%)} = \frac{\text{MST (g)}}{[\text{A (cm)} / \text{DC (mm)}] + [\text{MSPA (g)} + \text{MSR (g)}]} \quad \text{Eq.(1)}$$

Trocas gasosas, Índice SPAD e Fluorescência

As medições foram realizadas entre 07:00 as 09:00 horas em duas folhas completamente expandidas das partes superiores de cada plântulas de *E. urograndis* por tratamento (segunda ou terceira folha, contadas a partir do ápice, posicionadas lados opostos) para medições de trocas gasosas [Taxa fotossintética líquida, ou de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); condutância estomática ao vapor

de água (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$); taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$); eficiência intrínseca do uso da água ($iWUE$), estimada pelo cálculo da razão entre A e g_s ; eficiência carboxilação (A/C_i), estimada pelo cálculo da razão entre A e C_i ; razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a). A troca gasosa foi medida 120 d.a.i, utilizando-se de um analisador de gás a infravermelho (IRGA, Infrared Gas Analyzer), modelo Li-6400 (Li-Cor, Biosciences Inc., Nebraska, EUA). A radiação fotossinteticamente ativa foi mantida constante no interior da câmara, com uma intensidade de $500 \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e foi aplicada sobre uma área foliar de 6 cm^2 , sem aquecimento foliar, por meio do sistema de iluminação artificial composto de uma mistura de LED's (Light Emitting Diodes) azuis e vermelhos acoplados ao equipamento (a fonte de luz artificial foi fornecida pelo fabricante Li-Cor, USA). Durante as avaliações, a temperatura foliar de 27°C e níveis ambientais de CO_2 ($400 \mu\text{mol mol}^{-1}$).

O índice de cor verde (Índice SPAD) foi avaliado por meio do medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 "Soil Plant Analyser Development" (Minolta, Japão), nas mesmas folhas e nos mesmos dias em que foram realizadas as medidas de trocas gasosas. Foram utilizadas a média de cinco leituras por folha, duas folhas por plântulas, cinco repetições por tratamento. O rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) e o índice fotossintético (PI) foram obtidos com auxílio do fluorímetro Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser), nas mesmas folhas em que foram realizadas as medidas de trocas gasosas, as quais foram adaptadas ao escuro por 30 minutos com auxílio de pinças adequadas (acompanhadas com o equipamento, pelo mesmo fabricante). Essa adaptação ao escuro foi feita para que os centros de reações estivessem completamente abertos com perda mínima de calor (Strasser et al., 1995, 2000, 2004). Após a adaptação, um único pulso forte de luz ($3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi aplicado com a ajuda de três diodos emissores de luz (650 nm). As avaliações foram realizadas às 7:30 horas. Para as avaliações da variável PI, foi feito o mesmo procedimento, já que os valores também são fornecidos pelo fluorímetro Pocket PEA (Plant Efficiency Analyser).

Análise do teor e conteúdo de nutrientes da parte aérea e raiz das plântulas de eucalipto

A análise do teor de nutrientes das plântulas de *E. urograndis* foram realizadas após 120 d.a.i. O teor de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre

(S), silício (Si), ferro (Fe), zinco (Zn), manganês (Mn), cobre (Cu), boro (B), sódio (Na), zinco (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), molibdênio (Mo), alumínio (Al), berílio (Be), bismuto (Bi), cádmio (Cd), crômio (Cr), lítio (Li), chumbo (Pb), rubídio (Rb), selênio (Se), estrôncio (Sr), titânio (Ti), tálio (Tl) e vanádio (V) foram quantificados usando plasma indutivamente acoplado espectrometria de emissão (ICP-OES ICAP 6500 DUO) da marca Shimadzu, após digestão com HNO₃ (Merck) e H₂O₂ (Merck) em um sistema de digestão aberto (Peters 2005). As condições ICP foram as seguintes: fluxo de plasma 8,0 L min⁻¹, Gás auxiliar 0,70 L min⁻¹ e gás transportador 0,55 L min⁻¹. O nitrogênio (N) foi submetido à digestão sulfúrica, medido pelo método de Nessler (Jackson 1965) na sequência por manual de análise de solos e plantas (Kalra 1998).

Análise estatísticas dos dados

Os efeitos da inoculação, tratamento com Fe e parâmetros ecofisiológicos das plântulas *E. urograndis* foram analisados estatisticamente pelo *two-way* ANOVA. Quando um fator ou nenhuma interação entre os fatores foi considerada estatisticamente significativa, realizamos comparações de pares, por meio de um teste *t* e corrigidos os resultados correspondentes para comparações múltiplas pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o GraphPad Prism 7.0 utilizando um nível de significância de 5%. A análise multivariada de componentes principais (PCA) foi usada para relacionar todos parâmetros de crescimento, ionoma da parte aérea e raiz e fisiológicos do *E. urograndis*, em diferentes tratamentos a pH=3, utilizando-se o programa Fitopac 2.1.2.85.

3. RESULTADOS

Respostas de crescimento

Plântulas *E. urograndis* micorrizadas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) aumentaram o crescimento e obtiveram maior fortalecimento dos caules das plântulas, tornando-os mais eretos na parte aérea se comparados aos demais tratamentos (controle não micorrizado e micorrizado/ 1,5 Si não micorrizado e micorrizado/ 6 Fe não micorrizado e micorrizado/ 6Fe + 1,5 não micorrizado) (Figura 1A).

A produção de massa seca da parte aérea das plântulas de *E. urograndis* foram significativamente maiores em todos os tratamentos micorrizados, quando comparados aos não micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 1B; Tabela 3). Verificamos também que a inoculação por *C. entunicatum* nas plântulas de *E. urograndis* foram responsáveis por 69,02% da variância total. Por outro lado, a produção de massa seca da parte aérea os tratamentos não micorrizados submetidos a 6mM Fe obtiveram reduções significativas, se comparados ao controle não micorrizado. Foram observados aumentos significativos nos tratamentos submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) na produção de massa seca da parte aérea não micorrizados e micorrizados submetidos ao estresse de Fe, comparados ao controle não micorrizado e micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 1B; Tabela 3).

De maneira similar, foram verificados acréscimos significativos na produção de massa seca da raiz em todos os tratamentos micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 1C; Tabela 3) se comparados ao não micorrizados, não diferindo-os significativamente, independentemente quando foram submetidos ao estresse por Fe. De forma contrária, o tratamento não micorrizado submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) não diferiram significativamente na produção de massa seca da raiz, se comparados ao controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 1C; Tabela 3).

As plântulas *E. urograndis* micorrizadas apresentaram significativamente maiores IQD do que as plântulas não micorrizadas ($P < 0,0001$; Figura 1D; Tabela 3). Plântulas não micorrizadas submetidas ao estresse por Fe, reduziram significativamente o IQD, se comparados ao controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 1D; Tabela 3). Por outro lado, plântulas de *E. urograndis* micorrizadas submetidas ao estresse po 6 Fe aumentaram significativamente o IQD, se comparados as não micorrizadas ($P < 0,0001$; Figura 1D; Tabela 3). Plântulas não

micorrizadas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), aumentaram significativamente IQD se comparados ao controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 1D; Tabela 3). De forma similar plântulas micorrizadas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) obtiveram aumentos significativos no IQD, se comparados aos demais tratamentos micorrizados (controle/1,5 Si/6 Fe) ($P < 0,0001$; Figura 1D; Tabela 3).

As plântulas não micorrizadas e micorrizadas diferiram na forma como ajustam à partição da biomassa entre a raiz e a parte aérea em resposta a exposição com o silício (1,5 Si) e submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) ($P < 0,0001$; Figura 1E; Tabela 3). As plântulas micorrizadas tratadas com o silício (1,5 Si) aumentaram proporcionalmente a biomassa alocada nas raízes quando comparados ao controle micorrizado, enquanto nas plântulas micorrizadas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) reduziram significativamente essa partição se comparado ao tratamento apenas com tratamento submetidos ao estresse de Fe ($P < 0,0001$; Figura 1E; Tabela 3).

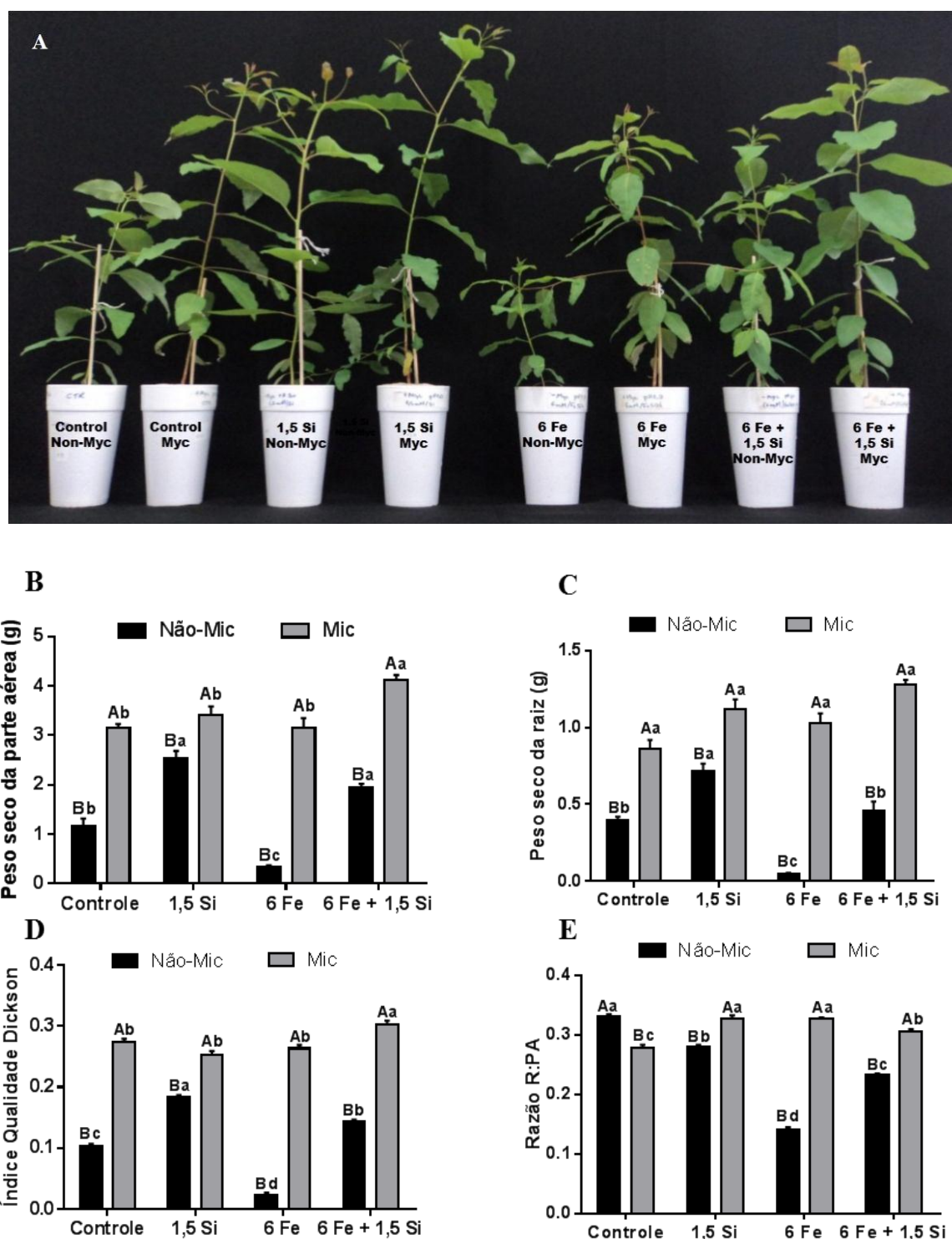


Figura 1. (A) Visualização frontal do experimento; (B) peso seco da parte aérea (g). (C) peso seco da raiz (g); (D) Índice de Qualidade de Dickson (IQD); (E) razão raiz:parte aérea (Razão R:PA) das plântulas da *E. urograndis*, expostas a Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de $FeSO_4$ todos em pH=3 aos 120 dias após a inoculação (n=5), constando nos tratamentos: Controle não micorrizado (Controle-Não-Mic), Controle Micorrizado (Controle-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) não micorrizado (1,5 Si- Não-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) micorrizado (1,5 Si-Mic), 6 mM Fe de $FeSO_4$ Não micorrizado (6 Fe-

Não-Mic), 6 mM Fe de FeSO_4 micorrizado (6 Fe -Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de FeSO_4 não micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Não-Mic) e 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de FeSO_4 micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Mic), inoculados com FMA *C. entunicatum* em pH= 3, aos 120 dias após a inoculação (n=5). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de FeSO_4) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=5).

Em termos da parte aérea, plântulas *E. urograndis* micorrizadas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), obtiveram aumentos significativos na área foliar, se comparados aos mesmos tratamentos não micorrizados. ($P < 0,0001$; Figura 2A; Tabela 4). Plântulas micorrizadas nos tratamentos silício (1,5 Si) e submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), responderam à inoculação com *C. etunicatum* apresentando aumento significativo na área foliar ($P < 0,0001$; Figura 2A; Tabela 4).

Nos tratamentos (Controle), (1,5 Si) e (6 Fe) micorrizados apresentaram aumentos significativos no número de folhas, exceto quando submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), quando comparados aos mesmos tratamentos não micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 2B; Tabela 4).

O tamanho foliar total são representados pela razão área foliar:número de folhas ($P < 0,0001$; Figura 2C; Tabela 4). O efeito da micorrização foi significativamente maior quando as plântulas foram expostas a 6 mM Fe ($P < 0,0001$; Figura 2C; Tabela 4) e um acréscimo significativo na razão área foliar:número de folhas, quando submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) ($P < 0,0001$; Figura 2C; Tabela 4).

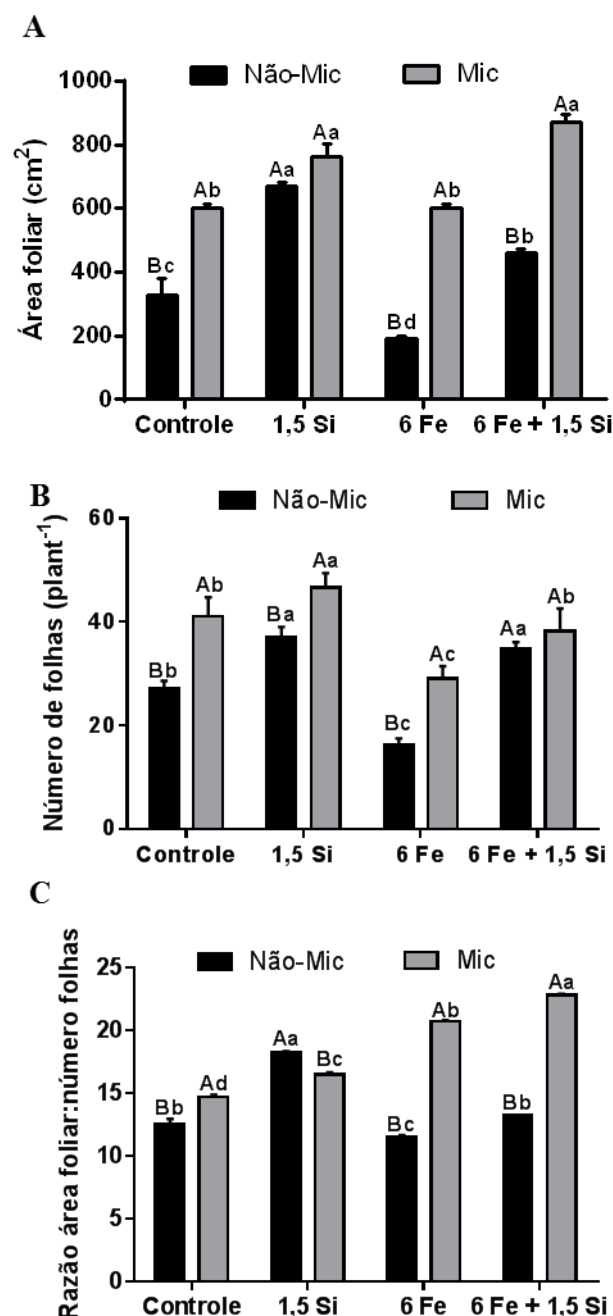


Figura 2. (A) Área foliar (cm²); (B) Número de folhas; (C) Razão da área foliar: número de folhas das plântulas *E. urograndis*, expostas a Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K₂SiO₃) e 6 mM Fe de FeSO₄ todos em pH=3 aos 120 dias após a inoculação (n=5), constando nos tratamentos: Controle não micorrizado (Controle-Não-Mic), Controle Micorrizado (Controle-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K₂SiO₃) não micorrizado (1,5 Si- Não-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K₂SiO₃) micorrizado (1,5 Si-Mic), 6 mM Fe de FeSO₄ Não micorrizado (6 Fe-Não-Mic), 6 mM Fe de FeSO₄ micorrizado (6 Fe -Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K₂SiO₃) + 6 mM Fe de FeSO₄ não micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Não-Mic) e 1,5 mM Si - silicato de potássio (K₂SiO₃) + 6 mM Fe de FeSO₄ micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Mic), inoculados

com FMA *C. entunicatum* em pH= 3, aos 120 dias após a inoculação (n=5). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de $FeSO_4$) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=5).

Resposta do Ionoma

Acumulação e distribuição de macro e micronutrientes na parte aérea

No presente trabalho foram analisados a acumulação distribuição dos teores de macronutrientes na parte aérea de plântulas *E. urograndis* (Tabela 1 e 5). Os resultados revelaram que plântulas dos tratamentos Controle micorrizados foram significativamente maiores para N, P, Ca e Mg se comparados ao tratamento Controle não micorrizado, exceto para K, S e Si que reduziram significativamente ($P < 0,0001$; Tabela 1 e 5). Foram observados aumentos significativos nas plântulas dos tratamentos 1,5 Si micorrizados para N, P, K, Ca, Mg e Si, não diferindo para S, quando comparados ao 1,5 Si não micorrizado ($P < 0,0001$; Tabela 1 e 5). Plântulas dos tratamentos (6 Fe) micorrizados foram maiores para N, P e Ca, exceto para K, S e Si com redução significativa, comparando-se ao 6 Fe não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 1 e 5). Plântulas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados aumentaram para N, Ca e Mg e Si, não diferindo significativamente para P e S e redução significativa para K, se comparados ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 1 e 5).

Os resultados para a acumulação distribuição dos teores de micronutrientes na parte aérea mostraram que plântulas *E. urograndis* dos tratamentos Controle micorrizados aumentaram significativamente para Mn, Na, Zn, Rb, Sr e TI se comparados ao Controle não micorrizado, reduzindo significativamente para Fe, B, Mo, Al, Cd, Cr, Pb, Se e V e não havendo diferença significativa para Cu, Ni, Li e Ti ($P < 0,0001$; Tabela 1 e 5). Plântulas *E. urograndis* dos tratamentos 1,5 Si micorrizados aumentaram significativamente para Fe, B, Ni, Mo, Sr e TI, reduzindo significativamente para Mn, Zn, Al, Pb, Rb, não diferindo para Na, Cu, Cd, Cr, Li, Se, Ti e V, se comparados ao 1,5 Si não micorrizado ($P < 0,0001$; Tabela 1 e 5). Foram observados aumentos significativos para plântulas dos tratamentos 6 Fe micorrizados para Mn, Na, Mo, Sr, Ti, TI e V, quando comparados ao 6 Fe não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 1). Foram significativamente maiores nas plântulas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) micorrizados para Mn, Pb, Rb, Sr, TI, reduzindo para Fe, B, Na Zn, Cu, Mo, Al, Cd, Cr e V, não diferindo significativamente para Ni, Li, Se e Ti, comparado-se aos tratamentos de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 1 e 5).

Tabela 1. Teor de macro (mg Kg^{-1}) e micronutrientes ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) da parte aérea das plântulas de *E. urograndis*, dos tratamentos Controle, 1,5 mM Si, 6 mM Fe de FeSO_4 e 6 mM Fe de FeSO_4 + 1,5 mM Si não micorrizado (Não-Mic) e micorrizados (Mic) com FMA *C. entunicatum* em pH= 3, aos 120 dias após a inoculação. Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si, 6 mM Fe de FeSO_4 e 6 mM Fe de FeSO_4 + 1,5 mM Si) seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não-Mic e Mic), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não-Mic e Mic), seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=5).

Nutrientes	Controle		1,5 Si		6 Fe		6 Fe + 1,5 Si	
	Não-Mic	Mic	Não-Mic	Mic	Não-Mic	Mic	Não-Mic	Mic
<i>Macronutriente (mg Kg^{-1})</i>								
N	12,68±0.007Bb	22,60±0.007Aa	9,80±0.007Bd	19,19±0.007Ac	13,02±0.007Ba	17,64±0.007Ad	9,74±0.007Ac	19,23±0.007Bb
P	0,16±0.007Ba	0,28±0.007Ab	0,11±0.007Bb	0,17±0.007Aa	0,14±0.007Ba	0,17±0.007Ab	0,12±0.007Aa	0,13±0.007Ac
K	1,92±0.007Aa	1,38±0.007Bd	1,47±0.007Bd	1,54±0.035Ab	1,97±0.007Ab	1,44±0.007Bc	1,87±0.007Ac	1,66±0.240Ba
Ca	0,59±0.007Bb	1,00±0.007Aa	0,47±0.007Bd	0,64±0.007Ad	0,73±0.007Ba	0,93±0.007Ab	0,50±0.007Bc	0,82±0.007Ac
Mg	0,19±0.007Bb	0,35±0.007Aa	0,21±0.007Bb	0,27±0.007Ac	0,30±0.007Aa	0,32±0.007Ab	0,15±0.007Bc	0,32±0.007Ab
S	0,17±0.007Ab	0,10±0.007Bb	0,12±0.007Ac	0,13±0.007Ab	0,21±0.007Aa	0,11±0.007Bb	0,18±0.007Ab	0,16±0.007Aa
Si	323,5±0.707Aa	238,5±0.707Bc	311,5±0.707Bb	412,5±0.707Aa	279,5±0.707Ac	214,5±0.707Bd	322,5±0.707Ba	378,5±0.707Ab
<i>Micronutriente ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)</i>								
Fe	182,28±0.197Ac	85,83±0.113Bd	124,7±0.1419Bd	145,97±0.0,21Ab	487,52±0.247Aa	212,30±0.403Ba	188,86±0.091Ab	117,82±0.113Bc
B	73,16±0.593Ab	31,21±0.558Bd	29,48±0.367Bd	41,09±0.643Ac	95,55±0.318Aa	51,66±0.240Ba	51,23±0.544Ac	48,59±0.289Bb
Mn	563,41±0.417Bc	592,90±0.417Ac	443,18±0.579Ad	440,45±0.579Bd	1239,94±0.0,42Ba	1259,62±0.042Aa	823,62±0.268Bb	1058,82±0.268Ab
Na	0,084±0.007Bc	0,113±0.007Ab	0,080±0.007Ad	0,081±0.007Ad	0,113±0.007Bb	0,134±0.007Aa	0,121±0.007Aa	0,103±0.007Bc
Zn	29,13±0.615Bc	52,38±0.438Aa	34,60±0.282Ab	23,17±0.586Bc	50,48±0.367Aa	31,87±0.091Bb	35,67±0.233Ab	30,94±0.042Bb
Cu	8,93±0.049Ab	7,67±0.233Aa	6,73±0.190Ab	6,09±0.643Aa	8,88±0.084Ab	8,74±0.183Aa	11,53±0.332Aa	7,25±0.530Ba

Ni	1,45±0.007Ab	1,10±0.007Ac	0,99±0.007Bb	4,90±0.007Aa	16,17±0.586Aa	3,01±0.134Bb	1,35±0.035Ab	1,29±0.007Ac
Mo	1,68±0.007Ab	1,55±0.007Bb	0,73±0.007Bc	1,15±0.007Ab	1,74±0.007Ba	2,04±0.007Aa	1,76±0.007Aa	1,03±0.014Bd
Al	59,29±0.502Ac	82,96±0.028Bc	46,80±0.141Ad	52,97±0.021Bd	87,00±0.707Aa	135,50±0.353Ba	73,49±0.360Ab	105,29±0.502Bb
Cd	0,11±0.007Aa	0,01±0.007Bb	0,03±0.007Ab	0,05±0.007Aa	0,11±0.007Aa	0,05±0.007Ba	0,13±0.007Aa	0,07±0.007Ba
Cr	7,99±0.007Ab	3,34±0.466Bb	6,18±0.579Ab	6,89±0.077Aa	56,84±0.113Aa	6,87±0.098Ba	6,89±0.077Ab	1,25±0.007Bc
Li	0,33±0.007Aa	0,35±0.007Aa	0,10±0.007Ab	0,04±0.007Ad	0,12±0.007Ab	0,29±0.007Ab	0,32±0.007Aa	0,15±0.007Ac
Pb	0,40±0.007Ab	0,12±0.007Bc	1,13±0.007Aa	0,10±0.007Bc	0,32±0.007Ac	0,31±0.007Aa	0,24±0.007Bd	0,27±0.007Ab
Rb	17,48±0.367Bc	28,25±0.530Ac	21,76±0.169Ab	18,76±0.169Bd	40,42±0.410Aa	37,90±0.070Ba	21,42±0.410Bb	30,73±0.190Ab
Se	3,59±0.007Ab	2,38±0.007Bc	2,18±0.007Ac	2,25±0.007Ac	13,04±0.678Aa	5,31±0.007Ba	4,54±0.007Ab	3,79±0.007Ab
Sr	17,81±0.134Bc	40,91±0.063Aa	19,08±0.650Bb	27,10±0.636Ad	26,95±0.035Ba	35,98±0.014Ab	14,26±0.523Bd	30,88±0.084Ac
Ti	5,13±0.615Aa	4,74±0.183Ab	4,36±0.452Aa	3,20±0.565Ab	4,38±0.438Ba	7,30±0.494Aa	5,59±0.289Aa	4,83±0.120Ab
TI	18,00±0.707Bc	84,75±0.176Ab	42,88±0.084Bb	71,05±0.671Ad	76,29±0.502Ba	94,12±0.622Aa	15,49±0.360Bd	79,91±0.063Ac
V	0,83±0.007Aa	0,42±0.007Ba	0,20±0.007Ac	0,20±0.007Ac	0,22±0.007Bc	0,27±0.007Ab	0,48±0.007Ab	0,07±0.007Bd

Acumulação e distribuição de macro e micronutrientes na raiz

No presente trabalho foram analisados a acumulação distribuição dos teores de macronutrientes na raiz de plântulas *E. urograndis* (Tabelas 2 e 6). Os resultados revelaram que plântulas dos tratamentos Controle micorrizados foram significativamente menores para P, K, Ca, Mg, Si, S e maiores para N, se comparados ao tratamento Controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Tabelas 2 e 6). Houve aumentos significativos nas plântulas dos tratamentos (1,5 Si) micorrizados para N, Mg, S, menores para Si, não diferindo-se para P, K e Ca, quando comparados ao 1,5 Si não micorrizado ($P < 0,0001$; Tabela 2 e 6). Plântulas dos tratamentos (6 Fe) micorrizados foram menores para P, Mg, S e Si, exceto para K e Ca, não diferindo-se significativamente e maiores para N, comparando-se ao tratamento 6 Fe não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 2 e 6). Plântulas dos tratamentos com Fe e silício (6Fe + 1,5 Si) micorrizados foram maiores para N e Ca, menores para Si, não diferindo-se significativamente para P e K, reduzindo significativa para Mg e S, se comparados aos tratamentos com Fe e silício (6Fe + 1,5 Si) não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 2 e 6).

Os resultados para a acumulação distribuição dos teores de micronutrientes na raiz mostraram que plântulas *E. urograndis* dos tratamentos Controle micorrizados aumentaram significativamente para Fe, Cu, Al, Bi, Cr, Li e Se se comparados ao Controle não micorrizado, reduzindo significativamente para B, Mn, Na, Zn, Ni, Mo, Cd, Rb, Sr, Ti e Tl, não diferindo-se para Be, Pb e V ($P < 0,0001$; Tabela 2 e 6). Plântulas dos tratamentos 1,5 Si micorrizados foram maiores significativamente para Fe, Cu, Ni, Mo, Be, Bi, Cd, Cr, Rb, Se, Sr, Tl e V, reduzindo significativamente para B, Mn, Zn, Al, Ti, não diferindo para Na, Li e Pb se comparados ao 1,5 Si não micorrizado ($P < 0,0001$; Tabela 2 e 6). Foram obtidos aumentos significativos para plântulas dos tratamentos 6 Fe micorrizados para Fe, Mo, Al, Be, Bi, Li, Pb, Sr e V e reduzindo significativamente para B, Mn, Na, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Rb, Se e Tl e não diferindo para Ti, quando comparados ao 6 Fe não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 2 e 6). Foram observados aumentos significativos nas plântulas dos tratamentos com estresse de Fe e silício (6Fe + 1,5 Si) micorrizados para Cu, Al, Be, Cd e Sr, reduzindo para Fe, B, Mn, Zn, Ni, Bi, Cr, Li, Rb, Se, Ti e Tl, não diferindo significativamente para Pb e V, comparado-se aos tratamentos com estresse de Fe e silício (6Fe + 1,5 Si) não micorrizados ($P < 0,0001$; Tabela 2 e 6).

Tabela 2. Teor de macro (mg Kg^{-1}) e micronutrientes ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) das raízes de plântulas de *E. urograndis*, dos tratamentos Controle, 1,5 mM Si, 6 mM Fe de FeSO_4 e 6 mM Fe de FeSO_4 + 1,5 mM Si não micorrizado (Não-Mic) e micorrizados (Mic) com FMA *C. entunicatum* em pH= 3, aos 120 dias após a inoculação. Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si, 6 mM Fe de FeSO_4 e 6 mM Fe de FeSO_4 + 1,5 mM Si) seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não-Mic e Mic), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não-Mic e Mic), seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ ($n=5$).

Nutrientes	Controle		1,5 Si		6 Fe		6 Fe + 1,5 Si	
	Não-Mic	Mic	Não-Mic	Mic	Não-Mic	Mic	Não-Mic	Mic
<i>Macronutriente (mg Kg^{-1})</i>								
N	10,96±0.007Aa	8,50±0.007Bb	9,03±0.007Bb	9,34±0.007Aa	6,58±0.007Bc	7,15±0.007Ac	9,05±0.007Ab	5,69±0.007Bd
P	0,16±0.007Aa	0,06±0.007Bb	0,11±0.007Ab	0,12±0.007Aa	0,10±0.007Ab	0,06±0.007Bb	0,08±0.007Ab	0,08±0.007Ab
K	1,76±0.007Aa	0,55±0.007Bc	1,28±0.007Ab	0,93±0.007Aa	1,30±0.007Ab	0,49±0.007Ad	1,32±0.007Ab	0,85±0.007Ab
Ca	0,33±0.014Aa	0,27±0.007Bb	0,32±0.007Aa	0,35±0.007Aa	0,25±0.007Ab	0,28±0.007Ab	0,26±0.007Bb	0,35±0.007Aa
Mg	0,36±0.007Ab	0,20±0.007Bc	0,21±0.007Bd	0,32±0.007Aa	0,39±0.007Aa	0,21±0.007Bc	0,29±0.007Ac	0,24±0.007Bb
S	0,25±0.007Ac	0,10±0.007Bd	0,14±0.007Bd	0,18±0.007Aa	0,34±0.007Aa	0,16±0.007Bc	0,27±0.007Ab	0,17±0.007Bb
Si	580.5±0.707Aa	346.5±0.707Ba	271.5±0.707Ad	248.5±0.707Bc	524.5±0.707Ab	261.5±0.707Bb	374.5±0.707Ac	204.5±0.707Bd
<i>Micronutriente ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)</i>								
Fe	2703,49±0.042Bd	10213,11±0.030Aa	3190,76±0.162Bc	5032,63±0.176Ac	4748,76±0.155Bb	6062,92±0.056Ab	5947,35±0.296Aa	4473,68±0.219Bd
B	162,79±0.148Aa	72,67±0.233Bb	124,53±0.332Ab	44,22±0.551Bd	65,35±0.459Ad	54,02±0.692Bc	117,18±0.579Ac	89,18±0.579Ba
Mn	300,05±0.671Ab	85,98±0.014Bd	143,48±0.367Ad	121,40±0.424Bc	485,89±0.077Aa	168,59±0.289Bb	233,38±0.438Ac	180,15±0.601Ba
Na	0,366±0.023Aa	0,091±0.002Bd	0,200±0.070Ac	0,182±0.007Aa	0,320±0.007Ab	0,141±0.007Bb	0,212±0.005Ac	0,134±0.0007Ac
Zn	176,69±0.219Ac	67,86±0.098Bc	105,64±0.254Ad	94,13±0.615Bb	273,57±0.403Aa	93,50±0.353Bb	239,64±0.254Ab	130,23±0.544Ba
Cu	16,73±0.190Bb	18,63±0.261Aa	10,45±0.388Bd	14,14±0.608Ac	18,98±0.014Aa	10,53±0.332Bd	14,76±0.169Bc	16,00±0.707Ab

Ni	11,97±0.021Aa	10,55±0.318Ba	3,72±0.197Bc	6,39±0.431Ac	10,50±0.353Ab	6,93±0.049Bb	7,65±0.247Ac	4,54±0.325Bd
Mo	2,87±0.091Aa	1,76±0.098Bc	1,59±0.077Bb	3,11±0.233Ab	1,47±0.091Bb	9,10±0.240Aa	1,55±0.233Ab	1,14±0.042Ad
Al	2822,30±0.141Bb	3212,30±0.417Ac	5553,32±0.318Aa	4858,60±0.113Bb	1840,88±0.077Bd	5694,88±0.070Aa	2655,37±0.127Bc	2701,67±0.212Ad
Be	0,13±0.007Ac	0,15±0.007Ac	0,11±0.007Bc	0,24±0.007Ab	0,19±0.007Bb	0,31±0.007Aa	0,27±0.007Ba	0,31±0.007Aa
Bi	0,96±0.007Bd	5,56±0.007Aa	1,55±0.007Bc	3,58±0.007Ab	1,91±0.007Bb	3,49±0.007Ac	3,55±0.007Aa	2,04±0.035Bd
Cd	1,43±0.007Aa	0,52±0.014Bc	0,78±0.007Bc	1,03±0.007Ab	1,07±0.014Ab	0,46±0.007Bc	1,04±0.035Bb	1,14±0.007Aa
Cr	132,20±0.565Bc	806,23±0.544Aa	96,20±0.565Bd	324,72±0.197Ab	256,36±0.452Ab	237,38±0.438Bc	436,02±0.014Aa	129,00±0.707Bd
Li	0,18±0.007Bd	0,45±0.007Ab	0,53±0.007Aa	0,52±0.007Aa	0,47±0.007Bb	0,53±0.007Aa	0,32±0.007Ac	0,07±0.007Bc
Pb	1,98±0.014Ab	2,12±0.007Ad	3,23±0.014Aa	3,03±0.007Ab	1,54±0.042Bd	3,59±0.007Aa	1,86±0.028Ac	2,27±0.021Ac
Rb	41,52±0.339Aa	16,48±0.367Bc	20,06±0.664Bc	24,62±0.268Aa	42,48±0.367Aa	23,61±0.275Ba	22,07±0.657Ab	18,33±0.473Bb
Se	21,35±0.459Bc	125,49±0.360Aa	14,87±0.091Bd	50,87±0.091Ab	41,69±0.219Ab	37,15±0.601Bc	68,68±0.226Aa	20,20±0.565Bd
Sr	32,14±0.608Aa	24,27±0.516Bd	27,04±0.678Bb	32,33±0.473Aa	23,81±0.134Bc	26,89±0.077Ac	24,33±0.473Bc	29,33±0.473Ab
Ti	108,67±0.233Ac	84,18±0.579Bb	110,55±0.318Ab	83,08±0.650Bb	86,04±0.678Ad	87,33±0.473Aa	116,42±0.410Aa	69,45±0.388Bc
TI	86,63±0.261Ab	49,84±0.113Bc	43,15±0.601Bd	92,12±0.622Aa	97,38±0.438Aa	50,39±0.431Bc	71,40±0.424Ac	56,01±0.700Bb
V	10,98±0.014Ab	10,78±0.155Ac	13,19±0.572Ba	17,77±0.162Aa	6,53±0.332Bc	12,91±0.063Ab	9,86±0.098Ab	10,08±0.650Ad

Respostas fisiológicas

Índice SPAD de cor verde de clorofila

O índice SPAD de todos os tratamentos micorrizados aumentaram significativamente, quando comparados aos não micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 3; Tabela 7). Foram observados que os tratamentos não micorrizado submetidos ao tratamento com estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), aumentaram significativamente quando comparados com os tratamentos Controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 3; Tabela 7).

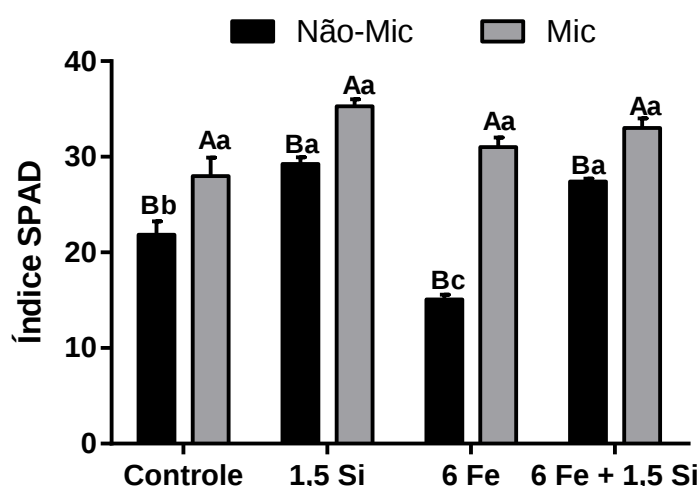


Figura 3. Índice SPAD de cor verde de clorofila das folhas das plântulas *E. urograndis*, expostas a Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de $FeSO_4$ todos em pH=3 aos 120 dias após a inoculação ($n=5$), constando nos tratamentos: Controle não micorrizado (Controle-Não-Mic), Controle Micorrizado (Controle-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) não micorrizado (1,5 Si- Não-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) micorrizado (1,5 Si-Mic), 6 mM Fe de $FeSO_4$ Não micorrizado (6 Fe-Não-Mic), 6 mM Fe de $FeSO_4$ micorrizado (6 Fe -Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de $FeSO_4$ não micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Não-Mic) e 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de $FeSO_4$ micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Mic), inoculados com FMA *C. entunicatum* em pH= 3, aos 120 dias após a inoculação ($n=5$). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de $FeSO_4$) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado),

não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ ($n=5$).

Resposta fotossintética

A capacidade fotossintética medida pela absorção líquida de carbono (A) foi significativamente maior em todos os tratamentos micorrizados, se comparados aos não micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 4A; Tabela 8). De forma semelhante, outros parâmetros como condutância estomática (g_s), transpiração (E), eficiência no uso da água ($iWUE$), eficiência de carboxilação (A/C_i), razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a), rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) e o índice fotossintético (PI), apresentaram o mesmo padrão de resposta ($P < 0,0001$; Figura 4B, C, D, E, F, G e H; Tabela 8).

Plântulas de eucalipto não micorrizadas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), obtiveram aumentos significativos nos seus valores médios na capacidade fotossintética (A), se comparados ao controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 4A; Tabela 8). O mesmo padrão resposta, porém com acréscimos acentuados nos seus valores médios na capacidade fotossintética (A) quando plântulas foram micorrizadas e submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), se comparados ao controle micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 4A; Tabela 8).

Os tratamentos Controle e 1,5 Si não micorrizados submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si), não diferiram significativamente na condutância estomática (g_s), exceto quando submetidas ao estresse de 6Fe obtendo-se uma redução significativa ($P < 0,0001$; Figura 4B; Tabela 8). Um padrão de resposta e similar e com acréscimo significativo, ocorreram nas plântulas micorrizadas para condutância estomática (g_s), eficiência no uso da água ($iWUE$) e razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a) ($P < 0,0001$; Figura 4B; Figura 4D; Figura 4F; Tabela 8)

Plântulas *E. urograndis* não micorrizadas dos tratamentos Controle, 1,5 Si e 6 Fe + 1,5 Si não diferiram estatisticamente na transpiração (E), exceto quando submetidas ao estresse de 6Fe obtendo-se uma redução significativa ($P < 0,0001$; Figura 4C; Tabela 8). De forma similar, plântulas tratadas com silício sem e com

extresse de ferro (1,5 Si/ 6 Fe + 1,5 Si) não revelaram diferenças significativas para transpiração (E) ($P < 0,0001$; Figura 4C; Tabela 8).

Plântulas *E. urograndis* não micorrizadas submetidas ao estresse de 6Fe, diminuiu significativamente a eficiência de carboxilação (A/Ci), quando comparadas ao tratamento controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 4E; Tabela 8). Plântulas tratadas com silício (1,5 Si) e submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) não micorrizadas e micorrizadas foram significativamente maiores na eficiência de carboxilação (A/Ci), se comparados aos controles não micorrizados e micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 4E; Tabela 8).

Nas plântulas tratadas com silício 1,5 Si não micorrizadas e micorrizadas, aumentaram significativamente no índice fotossintético (PI), se comparados aos controles não micorrizados e micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 4G; Tabela 8). Foi observado um declínio significativo no índice fotossintético (PI) nas plântulas submetidas ao estresse do 6Fe não micorrizados e micorrizados, quando comparados aos controles não micorrizados e micorrizados ($P < 0,0001$; Figura 4G; Tabela 8). Nas plântulas do tratamento com estresse de Fe e silício (6Fe + 1,5 Si) não micorrizadas não diferiram significativamente no índice fotossintético (PI) se comparados ao controle não micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 4G; Tabela 8). De forma contrária, nas mesmas plântulas do tratamento com estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) micorrizadas, foram observados aumentos significativos, se comparados ao controle micorrizado ($P < 0,0001$; Figura 4G; Tabela 8).

A relação Fv/Fm é um bom indicador de estresse, podendo variar entre 0,7 a 0,8 em plantas não submetidas ao estresse (Bolhàr-NordenKampf et al., 1989). Houve um declínio significativo de cerca de 0,3, na relação rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm) no tratamento 6mM Fe não micorrizado, quando comparados aos tratamentos controle não micorrizado, indicando assim efeito fotoinibitório no rendimento quântico máximo do PSII ($P < 0,0001$; Figura 4H; Tabela 8). Por outro lado, na relação Fv/Fm todos outros tratamentos não micorrizados e micorrizados, foram observados valores acima dos indicadores, de cerca de 0,7 e 0,9, evidenciando uma melhora substancial do rendimento quântico máximo do PSII ($P < 0,0001$; Figura 4H; Tabela 8).

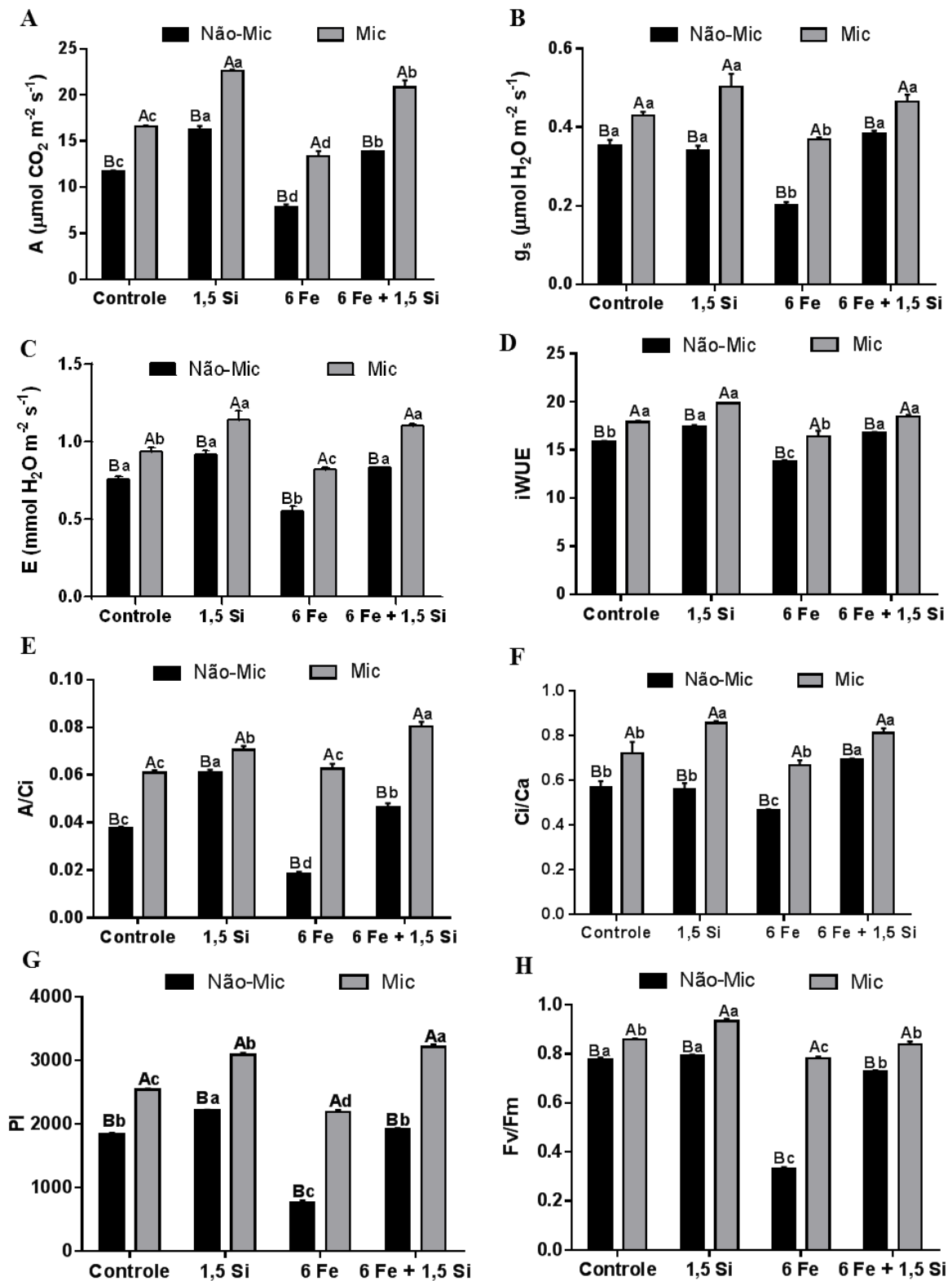


Figura 4. (A) Taxa fotossintética líquida, ou de assimilação líquida de carbono (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (B) condutância estomática ao vapor de água (g_s , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (C) taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); (D) eficiência intrínseca do uso da água ($iWUE$); (E) eficiência carboxilação (A/C_i); (F) razão entre a concentração de CO_2

interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (Ci/Ca); (G) índice fotossintético (PI) e (H) rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm) nas folhas de plântulas *E. urograndis*, expostas a Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de FeSO_4 todos em pH=3 aos 120 dias após a inoculação (n=5), constando nos tratamentos: Controle não micorrizado (Controle-Não-Mic), Controle Micorrizado (Controle-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) não micorrizado (1,5 Si- Não-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) micorrizado (1,5 Si-Mic), 6 mM Fe de FeSO_4 Não micorrizado (6 Fe-Não-Mic), 6 mM Fe de FeSO_4 micorrizado (6 Fe -Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de FeSO_4 não micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Não-Mic) e 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de FeSO_4 micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Mic), inoculados com FMA *C. entunicatum* em pH= 3, aos 120 dias após a inoculação (n=5). Os dados foram analisados por ANOVA bidirecional combinado com o teste de Tukey. Para cada concentração de Fe (Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de FeSO_4) as barras seguidas de mesma letra maiúscula nos diferentes tratamentos (Não micorrizado e Micorrizado), não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey em $P \leq 0,05$. Para cada tratamento (Não micorrizado e Micorrizado) as barras seguidas pela mesma letra minúscula na mesma concentração de Fe não são significativamente diferentes em $P \leq 0,05$ (n=5).

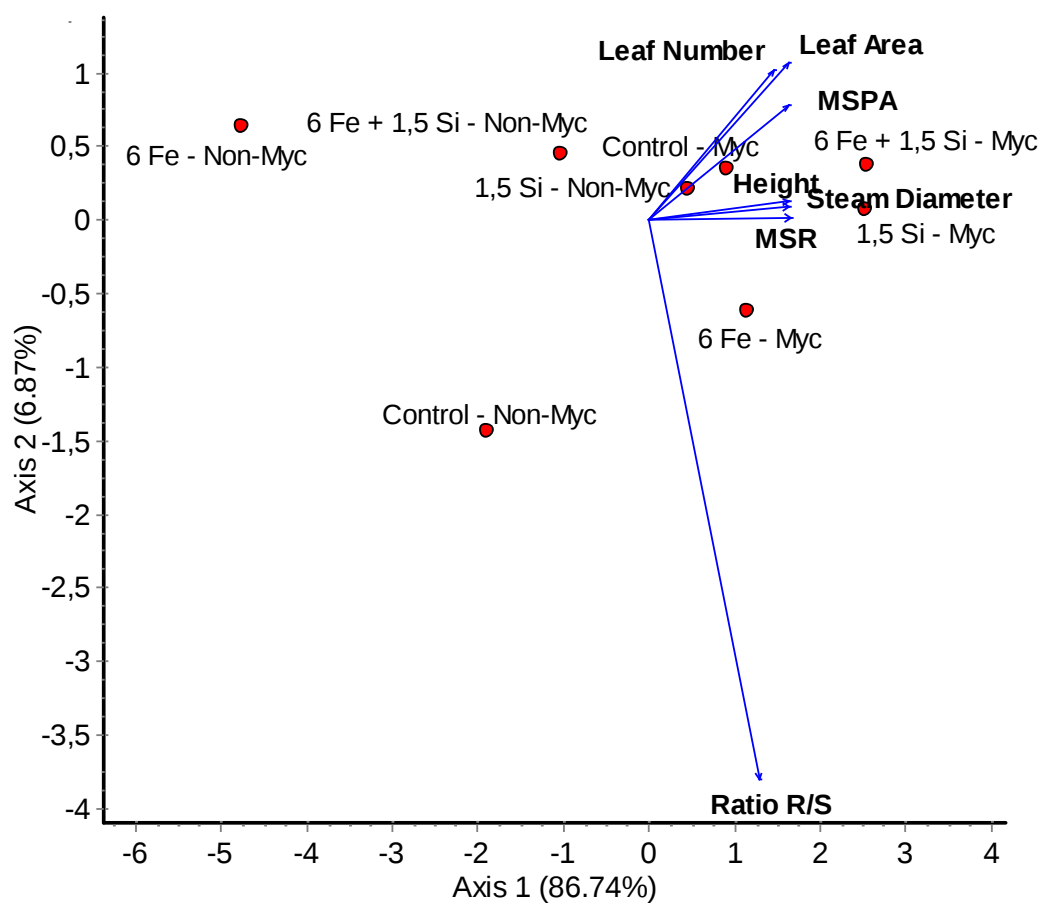
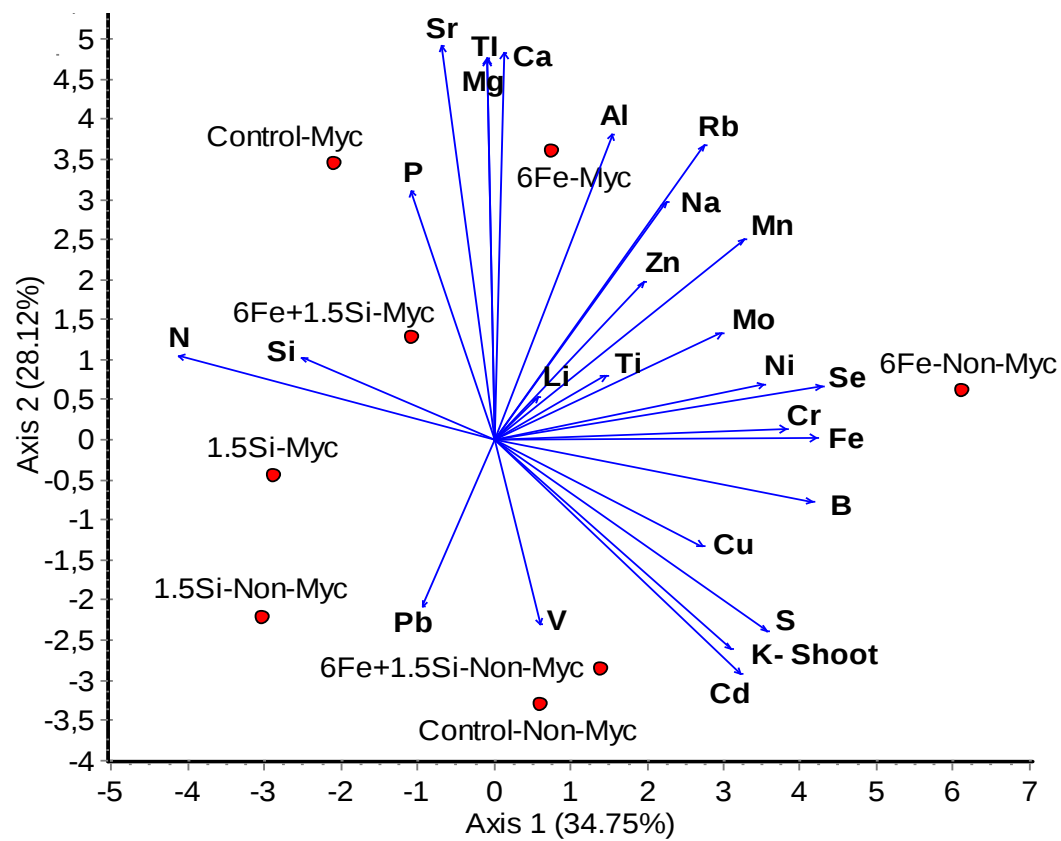
Análise multivariada de componentes principais (PCA)

A análise multivariada de componentes principais (PCA) mostrou que o uso combinado do Si + FMA, influenciaram positivamente todos os parâmetros de crescimento da espécie *E. urograndis*, quando submetidos ao estresse por 6 mM Fe (Figura 5A).

De modo geral, plântulas *E. urograndis* micorrizadas da parte aérea, influenciaram nutrientes minerais N, Si, P, Sr, Ti, Mg, Ca Al, Rb, Na e Zn. O ionoma do tratamento submetidos ao estresse de Fe mas com silício (6Fe+1,5 Si) acumularam mais N e Si (Figura 5B). Plântulas não micorrizadas submetidas ao estresse Fe promoveram desequilíbrio nos nutrientes minerais (Figura 5B).

Plântulas micorrizadas nas raízes de *E. urograndis* que não foram submetidas ao estresse de Fe, influenciaram os nutrientes Fe, Bi, Cr, Se e Li; Be, Mo, Si aos tratamentos submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe+1,5 Si) e N, Al e Pb aos tratamentos (1,5 Si-Myc) (Figura 5C).

Plântulas *E. urograndis* micorrizadas modularam positivamente todos os parâmetros ecofisiológicos submetidos aos tratamentos submetidos ao estresse de Fe mas com silício (6Fe+1,5 Si) (Figura 5C; Figura 5C). Plântulas *E. urograndis* micorrizadas dos tratamentos submetidos ao estresse de Fe mas com silício (6Fe+1,5 Si) aumentaram mais Pi, SPAD, A/Ci e Fv/Fm, enquanto micorrizado com silício (1,5 Si-Mic) foram maiores para iWUE, Gs, A e A/Ci (Figura 5D).

A**B**

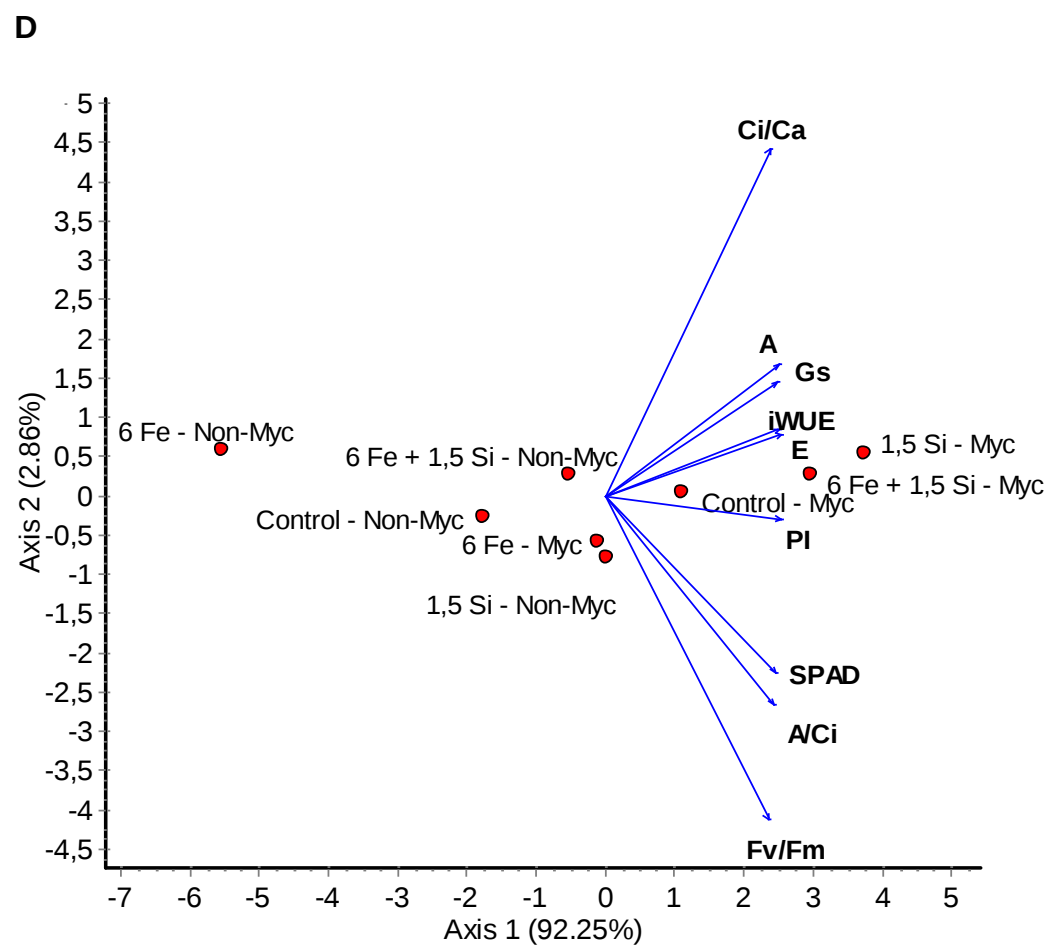
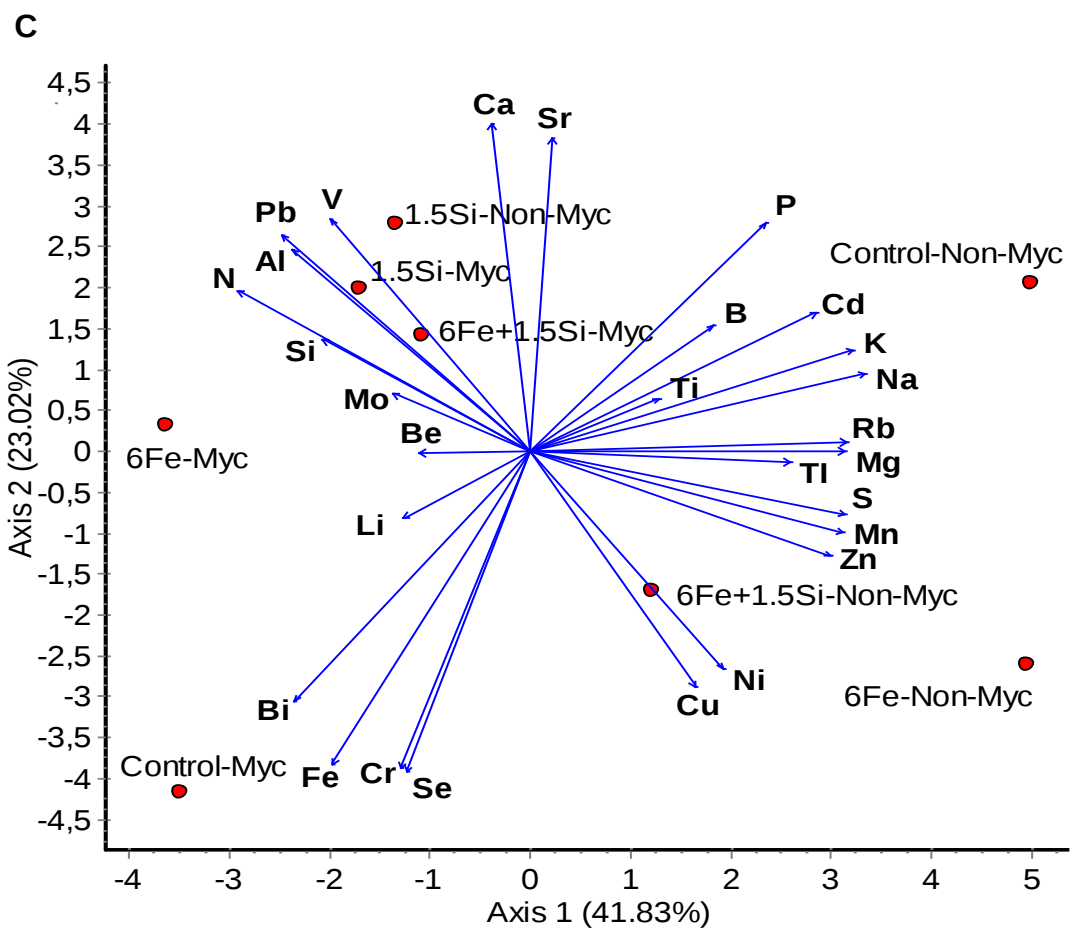


Figura 5. Análise multivariada de componentes principais (PCA) das respostas de crescimento (A); teor de macro e micronutrientes da parte aérea (B); teor de macro e micronutrientes das raízes (C); respostas fisiológicas (D) de plântulas *E. urograndis*, expostas a Controle 0 mM Fe, 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) e 6 mM Fe de $FeSO_4$ todos em pH=3 aos 120 dias após a inoculação (n=5), constando nos tratamentos: Controle não micorrizado (Controle-Não-Mic), Controle Micorrizado (Controle-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) não micorrizado (1,5 Si- Não-Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) micorrizado (1,5 Si-Mic), 6 mM Fe de $FeSO_4$ Não micorrizado (6 Fe-Não-Mic), 6 mM Fe de $FeSO_4$ micorrizado (6 Fe -Mic), 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de $FeSO_4$ não micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Não-Mic) e 1,5 mM Si - silicato de potássio (K_2SiO_3) + 6 mM Fe de $FeSO_4$ micorrizado (6 Fe + 1,5 Si -Mic), inoculados com FMA *C. entunicatum* em pH= 3, aos 120 dias após a inoculação (n=5).

4. DISCUSSÃO

A toxicidade do ferro é um dos fatores que limitam crescimento de espécies florestais tais como o eucalipto em solos contaminados por ferro (Liao et al., 1994; Fageria et al., 2008). De fato, escassos são os trabalhos que envolvam o uso combinado do silício e micorriza arbuscular no alívio da fitotoxidez por Fe em plantas.

O Si é um elemento mineral benéfico as plantas, pois aumenta o crescimento, confere rigidez, força e melhora tolerância das plantas a vários estresses abióticos (Meena et al. 2014; Abbas et al. 2015 Liang, et al., 2007.), incluindo metais pesados (Marschner 1995; Liang et al., 2007; Ma & Yamaji 2008). Neste estudo foram observados que plântulas de *E. urograndis* micorrizadas e submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) aumentaram o crescimento, os Índices de Qualidade e fortalecimento do caule, tornando-os mais eretos na parte aérea. Nesse sentido, torna-se evidente que o silício é de fato, um elemento benéfico ao crescimento, o fortalecimento da parede celular deixando-as mais eretas, aumento da área de exposição ao sol e sua qualidade (Dickson et al., 1960). Os mecanismos propostos são deposição do Si na forma de sílica e silicatos na parede celular e espaços intercelulares como sílica amorfa hidratada ($\text{SiO}_2.n\text{H}_2\text{O}$) reduzindo ou impedindo a entrada de metais do solo (por exemplo FeII) nas raízes das plantas e/ou na formação de complexos metal-silicato sendo translocados para vacúolos (Ma & Yamaji 2015), aliviando a fitotoxidez do (FeII) (Ryder et al., 2003; Liang et al., 2007). De forma adicional, FMA podem “ampliar” a aliviação dos efeitos tóxicos deste metal nas raízes das plantas hospedeiras, pelo seu efeito tamponante (Göhre & Paszkowski 2006; Ferrol et al., 2016). Nossos resultados mostraram que plântulas *E. urograndis* micorrizadas apresentaram maior produção de biomassa do que as plântulas não micorrizadas quando foram submetidas ao excesso de Fe, podendo indicar plântulas mais tolerantes ao Fe.

O tamanho foliar total são representados pela razão área foliar:número de folhas. Nossos resultados mostraram que o tamanho foliar foi maior quando as plântulas micorrizadas foram expostas ao Fe com silício (6Fe + 1,5 Si). Tais resultados mostram o potencial do uso combinado do Si e FMA no alívio da fitotoxidez por Fe em substrato ácido em plântulas de *E. urograndis* no tratamento (6Fe + 1,5 Si), pode possibilitar nestas plântulas, maiores aproveitamentos energéticos, fortalecimento no mesófilo foliar, aumento da área de exposição ao sol e aumento na fixação de CO_2 pela via fotossintética. Resultados semelhantes são relatados por Frew et al., (2017)

e Garg & Bhandari (2016), onde mostraram que a simbiose micorrízica em plantas hospedeiras, podem aumentar significativamente a absorção de nutrientes minerais, especialmente o silício, consequentemente aumentando o crescimento foliar e biossíntese de pigmentos fotossintéticos (clorofila).

O estudo do ionoma permite avaliar as interações existentes entre os mais diversos nutrientes minerais das plantas. De modo geral, o uso combinado do silício e micorriza no alívio da fitotoxidez por ferro em substrato ácido em plântulas de *E. urograndis* foram apresentadas no presente estudo. Foram encontrados acumulações e distribuição dos teores de nutrientes para Si em todos tratamentos micorrizados. De fato, a associação mutualística entre FMA em plantas hospedeiras, induzem a resistência aos estresses bióticos e abióticos (Augé 2001), incrementos na absorção nutrientes minerais na rizosfera (Marschner & Dell 1994) incluindo o Si (Frew et al., 2017). A combinação Si e FMA pode desempenhar um papel importante no controle da absorção de Fe e outros nutrientes minerais, mantendo suprimentos adequados para a planta hospedeira. Neste trabalho, plântulas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados, foram maiores na acumulação e distribuição dos teores de nutrientes na parte aérea para N, P, Ca e Mg comparando-se ao controle não micorrizado.

O N é constituinte de aminoácidos, amidas, proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas e na biossíntese de clorofila, podendo indicar melhoras substanciais nos parâmetros bioquímicos e fisiológicos de plântulas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados. De fato, em nossos resultados mostraram que todos os tratamentos micorrizados aumentaram o índice SPAD (índice do verde), indicando que plantas micorrizadas aumentam índice SPAD possivelmente por maior nutrição mineral (N e Mg), além P que é um constituinte do DNA nos cloroplastos e no equilíbrio químico do mesófilo foliar. O Mg é um elemento importante ao crescimento das plantas porque desempenha um papel central na biossíntese da clorofila, base da fotossíntese (Fraústo da Silva & Willians 1991). De fato, FMA promove incrementos na absorção nutrientes minerais na rizosfera (Alizadeh 2012) e na atividade fotossintética (Beltrano et al., 2013). Por outro lado, plântulas eucalipto não micorrizadas se comparadas ao controle, foram maiores para o índice SPAD quando tratadas com silício (1,5 Si) e quando submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe+1,5Si). Efeitos positivos do Si na biossíntese de clorofila e maquinaria fotossintética sob toxicidade de metais pesados, têm sido amplamente relatados (Rizwan et al., 2012; Feng et al., 2010). O crescimento das plântulas de eucalipto

neste trabalho, pode ser obtido a partir de melhorias da nutrição fosfatada (Guehl & Garbaye 1990), sendo que a maior absorção de P pode aliviar a toxicidade do Fe a partir do efeito de diluição iônica devido a melhor crescimento de plantas (Pacovsky et al., 1986). O Ca é constituinte importante da lamela média das paredes celulares (Epstein & Bloom 2005), podendo correlacionar com melhorias na fisiologia vegetal, possivelmente pela ligação Ca-Si na formação e acúmulo de silicato de cálcio na parede celular reduzindo influxo Fe II nas raízes, bem como na perda de água por transpiração, podendo ser portanto, um fator de adaptação ao estresse.

Neste trabalho, foram observados reduções drásticas na concentração de Fe na parte aérea ($4473,68 \text{ mg Kg}^{-1}$), quando comparados ao sistema radicular ($117,82 \text{ mg Kg}^{-1}$) nos submetidos ao estresse de Fe mas com silício (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados. De fato, o Si+FMA podem desempenhar um “papel fundamental” na aliviação das plantas em solos ricos em (FeII), não só pela melhoria da imobilização deste metal nas raízes, mas reduzindo a translocação do Fe da raiz para a parte aérea nas planta hospedeiras (Salim et al., 2013; Frew et al., 2017), podendo constituir um “modelo-chave” na redução dos efeitos negativos do Fe sobre as plantas. Respostas similares ocorreram em nosso estudo, sobre a redução de concentração de metais pesados tais na parte aérea para Cu ($7,25 \text{ mg Kg}^{-1}$), Zn ($30,94 \text{ mg Kg}^{-1}$), Al ($105,29 \text{ mg Kg}^{-1}$), Se ($3,79 \text{ mg Kg}^{-1}$) e Ni ($1,29 \text{ mg Kg}^{-1}$), quando comparados ao sistema radicular para Cu ($16,00 \text{ mg Kg}^{-1}$), Zn ($130,23 \text{ mg Kg}^{-1}$), Al ($27,01,67 \text{ mg Kg}^{-1}$), Se ($20,20 \text{ mg Kg}^{-1}$) e Ni ($4,54 \text{ mg Kg}^{-1}$) nos tratamentos (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados, respectivamente. Os resultados aqui apresentados sobre a redução da concentração de metais pesados na parte aérea, quando comparados aos da raiz, são corroborados por (Salim et al., 2013; Dufey et al., 2014; Garg & Bhandari 2016; Frew et al., 2017).

Os parâmetros fisiológicos de nosso estudo, mostraram respostas similares em para todos os tratamentos micorrizados para a capacidade fotossintética (A), a condutância estomática (gs), a transpiração (E), a eficiência no uso da água (iWUE), a eficiência de carboxilação (A/Ci), a razão entre a concentração de CO₂ interna da folha e concentração de CO₂ do ar em torno da folha (Ci/Ca), o rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm) e o índice fotossintético (PI). Outros estudos mostraram os aumentos sobre os mesmos parâmetros, induzidos por micorrizas nas plantas hospedeiras (Augé 2000; Ruiz-Lozano & Aroca 2010; Ferraz et al., 2014).

Por outro lado, plântulas *E. urograndis* não micorrizadas submetidas a fitotoxidez de ferro e com adição de silício (6Fe + 1,5 Si), aumentaram se comparados ao tratamento Controle micorrizado para a capacidade fotossintética (A), a eficiência

no uso da água (iWUE), eficiência de carboxilação (A/C_i), razão entre a concentração de CO_2 interna da folha e concentração de CO_2 do ar em torno da folha (C_i/C_a), não diferindo para condutância estomática (g_s), transpiração (E), índice fotossintético (PI), evidenciando assim o benefício do silício na redução dos efeitos negativos do ferro na fisiologia vegetal. Resultados semelhantes foram relatados por (Ferraz et al., 2014; Fu et al., 2012; Accioly et al., 2009). A aplicação de Si pode estar relacionada com a melhor condição hídrica nas células promovida pelo ajustamento osmótico (que confere melhor permeabilidade), o que resultou em células mais túrgidas (dilatadas) e com maior resistência mecânica. A maior parte desse mineral é incorporada na parede celular, principalmente nas células da epiderme. Outros autores corroboram nossos resultados (Liang et al., 2007; Iwasaki et al., 2002).

A relação F_v/F_m é um bom indicador de estresse, podendo variar entre 0,7 a 0,8 em plantas não submetidas ao estresse (Bolhàr-NordenKampf et al., 1989). Houve um declínio significativo, na relação rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) nas plântulas *E. urograndis* no tratamento 6mM Fe não micorrizado, indicando assim efeito fotoinibitório no rendimento quântico máximo do PSII. Por outro lado, na relação F_v/F_m todos outros tratamentos não micorrizados e micorrizados, foram observados valores acima dos indicadores, de cerca de 0,7 e 0,9, evidenciando melhora substancial do rendimento quântico máximo do PSII. Estes dados estão de acordo com Ferraz et al., 2014 que observaram eficiência fotoquímica em plantas herbáceas sob aplicação do silício e quando inoculados com micorrizas e também observados por (Davies et al., 2002).

Na fase bioquímica, pôde-se observar aumentos na eficiência da carboxilação (A/C_i) das plântulas micorrizadas submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6 Fe + 1,5 Si), comparados aos tratamentos controle do presente estudo, indicando melhoras na atividade ou no teor da Rubisco no estroma do cloroplasto. Gamalero et al., (2009) indicaram que FMA podem superar tais distúrbios por incrementos nutricionais e evitando também ação fitotóxica de Fe a partir de energia eficiente. Além disso, Ferraz et al., (2014) e Souza et al., (2010) ressaltam que o silício aumenta a capacidade bioquímica em plantas.

5. CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstraram que a hipótese do presente estudo foi aceita, pois o uso combinado do Si e *C. entunicatum* alivia a fitotoxidez do Fe nas plântulas de *E. urograndis* em substrato ácido, apresentando efeitos positivos na fisiologia vegetal.

E. urograndis micorrizadas submetidos ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) aumentam os parâmetros de crescimento em destas plântulas como Índice de Qualidade, tamanho foliar e fortalecimento do caule na parte aérea e que *C. entunicatum* pode “ampliar” a aliviação dos efeitos tóxicos deste metal nas raízes de *E. urograndis*, pelo seu efeito tamponante.

Foram encontrados teores nutricionais para Si em todos tratamentos micorrizados. Plântulas de *E. urograndis* submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados foram maiores nos teores de nutrientes na parte aérea para N, P, Ca e Mg comparando-se ao controle não micorrizado. Plântulas eucalipto não micorrizadas se comparadas ao controle, foram maiores para o índice SPAD (1,5 Si e 6Fe+1,5Si). Foram observados reduções drásticas na concentração de Fe na parte aérea (4473,68 mg Kg⁻¹), quando comparados ao sistema radicular (117,82 mg Kg⁻¹) nos tratamentos (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados. Respostas similares ocorreram na parte aérea para outros metais como para Cu (7,25 mg Kg⁻¹), Zn (30,94 mg Kg⁻¹), Al (105,29 mg Kg⁻¹), Se (3,79 mg Kg⁻¹) e Ni (1,29 mg Kg⁻¹), quando comparados ao sistema radicular para Cu (16,00 mg Kg⁻¹), Zn (130,23 mg Kg⁻¹), Al (27,01,67 mg Kg⁻¹), Se (20,20 mg Kg⁻¹) e Ni (4,54 mg Kg⁻¹) nos tratamentos (6 Fe + 1,5 Si) micorrizados, respectivamente.

Os resultados fisiológicos mostraram que plântulas de *E. urograndis* submetidas ao estresse de Fe mas com silício (6Fe + 1,5 Si) aumentaram A, iWUE, A/Ci, Ci/Ca, evidenciando o benefício do silício na redução dos efeitos negativos do ferro na fisiologia do eucalipto. Houve declínio no PSII (Fv/Fm) no tratamento 6mM Fe não micorrizado, indicando efeito fotoinibitório e nos outros tratamentos não micorrizados e micorrizados, valores acima dos indicadores, evidenciando melhora no PSII (Fv/Fm). Na fase bioquímica aumentou a A/Ci, indicando melhoras na atividade ou no teor da Rubisco no estroma do cloroplasto.

Estudos sobre o uso combinado do Si e *C. entunicatum* aliviando a fitotoxidez do Fe em *E. urograndis* no substrato ácido são escassos. De fato, neste trabalho foi demonstrado que a associação Si-FMA constitui um modelo-chave na redução dos

efeitos negativos do Fe sobre em plantas. Há muito que ser realizado no futuro, sobretudo no entendimento dos mecanismos moleculares sobre o uso combinado do Si e *C. entunicatum* na aliviação a fitotoxidez do Fe nas plântulas de *E. urograndis*.

6. REFERÊNCIAS

(De acordo com as normas da Mycorrhiza jornal - ISSN: 0940-6360)

- Abbas T, Balal R. M, Shahid MA, Pervez MA, Ayyub CM, Aqueel, MA (2015) Silicon-induced alleviation of NaCl toxicity in okra *Abelmoschus esculentus* is associated with enhanced photosynthesis, osmoprotectants and antioxidant metabolism. *Acta Physiol. Plant* 37:1–15.
- Abraf. Anuário estatístico Abraf 2013 ano base 2012 / Abraf. – Brasília: 2013.
- Accioly AMA, Soares CRFS, Siqueira JO (2009) Silicato de cálcio como amenizante da toxidez de metais pesados em mudas de eucalipto. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 44:180-188.
- Alizadeh O (2012) A critical review on the nutrition role of arbuscular mycorrhizal fungi. *Jornal Elba Bioflux* 4(1):234-255.
- Araújo TO, Freitas-Silva S, Santana BVN, Kuki KN, Pereira EG, Azevedo AA, Silva LC (2015) Morphoanatomical responses induced by excess iron in roots of two tolerant grass species. *Environ Sci Pollut Res* 22:2187–2195.
- Augé RM (2001) Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11:3–42.
- Beltrano J, Ruscitti M, Arango MC, Ronco M (2013) Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(1):123-141.
- Bolhàr-Nordenkamp HR, Long SP, Baker NR, Öquist G, Schreibers U, Lechner EG (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology* 3: 497-514.
- Chichorro JF, da Silva ALP, Andrade WSP, Hegedus CEN, Kuboyama FAQ (2017) Custos e índices econômicos de povoamentos de eucalipto do Programa Produtor Florestal no Espírito Santo. *Pesq. flor. bras.*, Colombo, 92:447-456.
- Clemens S, Aarts M, Thomine S, Verbruggen N (2013) Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends Plant Science* 18:92-99.
- Crane S, Dighton J, Barkay T (2010) Growth responses to and accumulation of mercury by ectomycorrhizal fungi. *Fungal Biology* 114:873-880.
- da Silva AJ, Nascimento CW, Gouveia-Neto AS, Junior EAS (2015) Effects of Silicon on alleviating arsenic toxicity in maize plants. *R. Bras. Ci. Solo* 39:289-296.
- Dakora & Nelwamondo (2003) Silicon nutrition promotes root growth and tissue mechanical strength in symbiotic cowpea. *Functional Plant Biology* 30:947–953.

- Davies FT, Puryear JD, Newton RJ, Egilla JN, Saraiva Grossi JA (2002) Mycorrhizal fungi increase chromium uptake by sunflower plants: influence on tissue mineral concentration, growth, and gas exchange. *Journal of plant nutrition* vol. 25 11, pp. 2389–2407.
- Dickson A, Leaf AL, Hosner JF (1960) Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forest Chronicle* 36:10-13.
- Epstein E, Bloom AJ (2005) Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. 2.ed. Massachusetts: Sinauer 380p.
- Epstein, E (1999) Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 641-664.
- Fageria AB, Santos MP, Barbosa Filho CM (2008) Iron toxicity in lowland rice. *Journal of Plant Nutrition* 31:1676-1697.
- Feng Y, Cui X, He S, Dong G, Chen M, Wang J, Lin X (2013) The Role of Metal Nanoparticles in Influencing Arbuscular Mycorrhizal Fungi Effects on Plant Growth. *Environ. Sci. Technol* 47:9496–9504.
- Ferraz RLS, Beltrão NEM, Melo AS, Magalhães ID, Fernandes PD, Rocha MS (2014) Gas exchange and photochemical efficiency of cotton cultivars under leaf application of silicone. *Ciências Agrárias, Londrina* 35:735-748.
- Fraústo de Silva JJR, Williams RJP (1991) *The Biological Chemistry of the Elements*. Oxford: Clarendon Press 467–494.
- Frew A, Powell L, Sallam N, Johnson N Arbuscular mycorrhizal fungi promote silicon accumulation in plant roots, reducing the impacts of root herbivory (2017) *Plant Soil* 23:34-45.
- Fu YK, Shen H, Wu WM, Cai KZ (2012) Silicon mediated amelioration of FeII toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Pedosphere* 22(6):795–802.
- Gamalero E, Lingua G, Berta G, Glick BR (2009) Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Can. J. Microbiol* 55:501–514.
- Garg N, Bhandari P (2016) Silicon nutrition and mycorrhizal inoculations improve growth, nutrient status, K⁺/Na⁺ ratio and yield of *Cicer arietinum* L. genotypes under salinity stress. *Plant Growth Regul* 78:371–387.
- Gerdemann JW (1975) Vesicular arbuscular mycorrhiza. In: Torres JG, Clarkson DT eds. *The development and function of roots*, London, Academic Press p.575-591.
- Gerdemann JW, Nicolson TH (1963) Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc* 46:235-244.
- Göhre V, Paszkowski U (2006) Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta* 223:1115-1123.
- Grantz DA, Garnerb JHB, Johnson DW (2003) Ecological effects of particulate matter. *Environment International* 29:213–239.

- Guehl JM, Garbaye J (1990) The effect of mycorrhizal status on carbon dioxide assimilation capacity, water-use efficiency and response to transplanting in seedlings of *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. *Ann For Sci* 21:551–563.
- Hell R, Stephan W (2003) Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants 216: 541–551.
- Hoagland DR, Arnon DI (1938) The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experimental Station* 2:347-357.
- Ibá – Indústria Brasileira de Árvores. Anuário Estatístico Ibá 2016. Brasília, 2016. 96.
- Iwasaki K, Maier P, Fecht M, Horst WJ (2002) Influence of the apoplastic silicon concentration on the manganese tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *J. Plant. Physiol* 159:167-173.
- Jackson ML (1965) *Soil chemical analysis*. New Jersey: Prentice Hall 498 p.
- Kalra YP (1998) *Handbook of reference methods for plant analysis*. Boca Raton, FL: CRC Press 300 p.
- Khan AG, Kuek C, Chaudhry TM, Khoo CS, Hayes WJ (2000) Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere* 41:197-207.
- Kuki KN, Oliva MA, Costa AC (2009) The Simulated Effects of Iron Dust and Acidity During the Early Stages of Establishment of Two Coastal Plant Species 196:287–295.
- Kuki KN, Oliva MA, Pereira EG, Costa AC, Cambraia J (2008) Effects of simulated deposition of acid mist and iron ore particulate matter on photosynthesis and the generation of oxidative stress in *Schinus terebinthifolius* RADDI and *Sophora tomentosa* L. *Science of Total Environment* 403:207-214.
- Kuki KN, Oliva MA, Pereira EG, Costa AC, Cambraia J (2008) Iron ore industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation, *Environ Manage* 42:111-121.
- Landeweert R, Hoffland E, Finlay RD, Kuyper TW, Breemen N (2001) Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution* 16:248-254.
- Lermen C, Mohr FBM, Alberton O (2015) Growth of *Cymbopogon citratus* inoculated with mycorrhizal fungi under different levels of lead. *Scientia Horticulturae* 186:239-246.
- Liang Y, Sun W, Zhub YG, Christie P (2007) Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. *Environ. Poll* 47:422-428.
- Liao JP, Lin XG, Cao ZH, Shi YQ, Wong MH (2003) Interactions between arbuscular mycorrhizae and heavy metals under sand culture experiment. *Chemosphere* 50:847–853.
- Lopes AS, Oliva MA, Martinez CA (2000) Impacto das emissões de dióxido de enxofre e deposição de material particulado de ferro em espécies vegetais de restinga: avaliação ecofisiológica. In: *Ecotoxicologia - Perspectivas para o século XXI*.

- Espíndola, ELG, Paschoal CMR, Rocha O, Bohrer MBC, Oliveira Neto, A.L. (eds), *RiMa Artes e Textos*, São Carlos p 53-71.
- Ma JF & Takahashi E (2001) Silicon as a beneficial element for crop plants. L.E. Datnoff G.H. Snyder and G.H. Korndorfer (Editors) 34:45-56.
- Ma JF & Yamaji N (2015) A cooperated system of silicon transport in plants. *Trends in Plant Science* 20, 435–442.
- Ma JF (2004) Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science & Plant Nutrition* 50:11-18.
- Ma JF, Yamaji N (2008) Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 65:3049-3057.
- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. Academic Express, London, ed.:889p.
- Marschner H, Dell B (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159:89-102.
- Meena VD, Cao ZH, Shi YQ, Wong MH (2014) A case for silicon fertilization to improve crop yields in tropical soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* 84:505-518.
- Mohiuddin K, Strezov V, Nelson PT, Stelcer E, Evans T (2014) Mass and element distributions of atmospheric particles nearby blast furnace and electric arc furnace operated industrial areas in Australia. *Science of the Total Environment* 487:323-334.
- Neves NR, Oliva MA, Centeno DC, Costa AC, Ribas RF, Pereira EG (2009) Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: Potential use in environmental risk assessment. *Science of The Total Environment* 407:3740-3745.
- Pacovsky RS, Bethlenfalvay GJ, Paul EA (1986) Comparison between Pfertilized and mycorrhizal plants. *Crop Sci* 26:151–156.
- Peters, John. B. (2005) (ed.) *Wisconsin procedures for soil testing, plant analysis and feed & forage analysis: Plant Analysis*. Department of soil science, College of Agriculture and Life Sciences, University of Wisconsin – Extension, Madison, WI.
- Prinsen P, Gutiérrez A, Rencoret J, Nieto L, Jiménez-Barbero J, Burnet A, Petit-Conil M, Colodette JL, Martínez AT, del Río JC (2012) Morphological characteristics and composition of lipophilic extractives and lignin in Brazilian woods from different eucalypt hybrids. *Industrial Crops and Products* 36:572-583.
- Pugh RE, Dick DG, Fredeen AL (2002) Heavy Metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) Contents of Plant Foliage near the Anvil Range Lead/Zinc Mine, Faro, Yukon Territory. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 52:273-279.
- Rezende, JLP, Oliveira, AD (2013) *Análise econômica e social de projetos florestais*. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV. 385 p.

- Ricachenevsky FK, Sperotto RA (2014) There and back again, or always there? The evolution of rice combined strategy for Fe uptake. *Front. Plant Sci.* 5:189.
- Rillig MC (2004) Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem. *Chemosphere* 740–754.
- Rizwan M, JD. Meunier H, Miche C, Keller (2012) Effect of silicon on reducing cadmium toxicity in durum wheat (*Triticum turgidum* L.) grown in a soil with aged contamination. *J. Hazard. Mater* 10:326-334.
- Rocha DI, Silva LC, Pereira EG, Sant'Anna BF, Gontijo ER, Oliva MA (2014) Early detection of injuries in leaves of *Clusia hilariana* Schltdl. (Clusiaceae) caused by particulate deposition of iron Revista Árvore, Viçosa-MG, v.38, n.3, p.423-432.
- Ryder M, Gérard F, Evans DE, Hodson MJ (2003) The use of root growth and modeling data to investigate amelioration of aluminium toxicity by silicon in *Picea abies* seedlings. *J Inorg Biochem* 97: 52–58.
- Salim BBM, Eisa SS, Ibrahim,S, Girgis MGZ, Abdel-Rassoul M (2013) Effect of Biofertilizers, Mycorrhiza and Foliar Spraying of some Micronutrients (Fe⁺; Mn⁺; Zn) and Potassium Silicate on Enhancing Salt Tolerance of Wheat Plant. *International Journal of Environment* 2(2): 35-45.
- Santander C, Aroca R, Ruiz-Lozano JM, Olave J, Cartes P, Borie F, Cornejo P (2017) Arbuscular mycorrhiza effects on plant performance under osmotic stress. *Mycorrhiza* 345-378.
- Sousa JV, Rodrigues CR, Luz JMQ, Carvalho PC, Rodrigues TM, Brito CH (2010) Silicato de potássio via foliar no milho: fotossíntese, crescimento e produtividade. *Biosci. J* 26:502-513.
- Strasser BJ, Strasser RJ (1995) Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test. In: Mathis, P. (Ed.), *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, vol. V. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands p. 977–980.
- Strasser RJ (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M et al. (Ed). *Probing photosynthesis: mechanism, regulation and adaptation*. London: Taylor & Francis p.443-480.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A (2004) Analysis of the fluorescence transient. In: George C., Papageorgiou C., Govindjee (eds.): *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. *Advances in Photosynthesis and Respiration Series*. Springer, Dordrecht 321–362.
- Takahashi E, Ma JF, Miyake Y (1990) The possibility of silicon as an essential element for higher plants. *Comment. Agr. Food Chem* 2:99–122.
- Wong MH, Chan KC, Choy CK (1978) The effect of the iron ore tailing on the costal environment of Tolo harbor, Hong Kong. *Environmental Reaserch* 15:342-356.
- Wu J, Shi Y, Zhu YX, Wang YC, Gong HJ (2013) Mechanisms of Enhanced Heavy Metal Tolerance in Plants by Silicon: A Review. *Pedosphere* 23(6): 815–825.

7. ANEXOS

Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação nos parâmetros de crescimento de plântulas de *E. urograndis*. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) MSPA						
Interação	3	4,42	1,47	15,03	9,28	$P<0,0001$
Tratamentos	3	10,10	3,36	34,3	21,18	$P<0,0001$
Inoculação	1	32,92	32,92	335,2	69,02	$P<0,0001$
Resíduos	28	2,75	0,098			
b) MSR						
Interação	3	0,48	0,16	12,87	9,29	$P<0,0001$
Tratamentos	3	0,86	0,28	22,82	16,48	$P<0,0001$
Inoculação	1	3,89	3,89	307,5	74,02	$P<0,0001$
Resíduos	28	0,35	0,012			
c) IQD						
Interação	3	0,02	0,0073	219	10,93	$P<0,0001$
Tratamentos	3	0,02	0,0081	243	12,13	$P<0,0001$
Inoculação	1	0,15	0,0252	4608	76,67	$P<0,0001$
Resíduos	16	0,0005333	3,333e-005			
c) Razão R:PA						
Interação	3	0,04	0,015	327,8	50,62	$P<0,0001$
Tratamentos	3	0,02	0,073	157,6	24,34	$P<0,0001$
Inoculação	1	0,02	1,975	538,6	27,73	$P<0,0001$
Resíduos	17	0,0007973	4,69e-005			

Tabela 4. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação nos parâmetros de crescimento de plântulas de *E. urograndis* (área foliar/número de folhas/razão área). Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) Área foliar						
Interação	3	1491	4972	20,32	8,87	$P<0,0001$
Tratamentos	3	6414	2138	87,37	38,13	$P<0,0001$
Inoculação	1	7768	7768	317,4	46,18	$P<0,0001$
Resíduos	28	6851	2447			
b) Número de folhas						
Interação	3	314	104,7	6,54	5,59	$P=0,0006$
Tratamentos	3	2964	988,1	61,82	52,78	$P<0,0001$
Inoculação	1	1683	1683	105,3	29,97	$P<0,0001$
Resíduos	65	1039	15,98			
c) Razão área foliar:número folhas						
Interação	3	138	45,99	626	40,05	$P<0,0001$
Tratamentos	3	67,97	22,66	308,4	19,73	$P<0,0001$
Inoculação	1	137,4	137,4	1871	39,89	$P<0,0001$
Resíduos	16	1,175	0,07347			

Tabela 5. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, fator da linha e fator da coluna nos parâmetros de teor de macro e micronutrientes da parte aérea de plântulas de *E. urograndis*. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) N						
Interação	3	18,76	6,25	125,05	5,78	$P<0,0001$
Fator da linha	3	8,193	8,86	177,28	8,193	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	86,03	279,2	558,44	86,03	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			
b) P						
Interação	3	0,006	0,0023	46	17,08	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,21	0,007	140	51,98	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,12	0,0121	242	29,95	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			
c) K						
Interação	3	0,32	0,1067	14,38	36,81	$P=0,0014$
Fator da linha	3	0,227	0,0757	10,21	26,14	$P=0,0041$
Faor da coluna	1	0,262	0,2627	35,4	30,22	$P=0,0003$
Resíduos	8	0,0593	0,007419			
d) Ca						
Interação	3	0,0369	0,0123	246	6,93	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,1926	0,0642	1284	36,18	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,3025	0,3025	6050	56,82	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			
e) Mg						
Interação	3	0,0164	0,0054	109,8	22,51	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0142	0,0047	95,17	19,51	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0420	0,0420	840,5	57,43	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

f) S

Interação	3	0,0073	0,0024	48,67	34,6	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0053	0,0017	35,33	25,12	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0081	0,0081	162	38,39	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

f) Si

Interação	3	24775	8258	16517	40,34	$P<0,0001$
Fator da linha	3	36617	12206	24411	59,63	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	12,25	12,25	24.5	0,01995	$P<0,0011$
Resíduos	8	4	0,5			

g) Fe

Interação	3	46063	15354	3870	20,69	$P<0,0001$
Fator da linha	3	13213	44046	1110	59,35	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	44426	44426	1119	19,96	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,3174	0,0396			

h) B

Interação	3	2361	786,9	3590	34,66	$P<0,0001$
Fator da linha	3	2968	989,3	4513	43,58	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	1480	1480	6750	21,73	$P<0,0001$
Resíduos	8	1.754	0,2192			

i) Mn

Interação	3	3674	1224	1182	2,22	$P<0,0001$
Fator da linha	3	1598	5327	5141	96,58	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	1978	1978	1909	1,19	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,8289	0,1036			

j) Na

Interação	3	0,0013	0,0004	889,8	23,35	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0041	0,0013	2737	71,81	$P<0,0001$

Faor da coluna	1	0,0002	0,0002	544,5	4,76	$P<0,0001$
Resíduos	8	4e-006	5e-007			

k) Zn

Interação	3	1003	334,4	2239	68,28	$P<0,0001$
Fator da linha	3	430,4	143,5	960,3	29,29	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	34,57	34,57	231,5	2,353	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,195	0,1494			

l) Cu

Interação	3	10,51	3,505	29,83	27,19	$P=0,0001$
Fator da linha	3	19,21	6,403	54,49	49,67	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	8,009	8,009	68,15	20,71	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,9401	0,1175			

m) Ni

Interação	3	172,9	57,63	1233	43,67	$P<0,0001$
Fator da linha	3	198,1	66,03	1413	50,03	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	24,55	24,55	525,3	6,201	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,3739	0,0467			

m) Mo

Interação	3	0,8044	0,2681	3900	29,33	$P<0,0001$
Fator da linha	3	1,933	0,6443	9372	70,48	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,004	0,004	66,27	0,1661	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0005	6,875e-005			

n) Al

Interação	3	925,8	308,6	1928	7,58	$P<0,0001$
Fator da linha	3	8286	2762	1725	67,84	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	3001	3001	1875	24,57	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,28	0,1601			

o) Cd

Interação	3	0,0080	0,0026	61,36	29,8	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0081	0,0027	62,35	30,28	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0104	0,01046	238,6	38,63	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0003	4,381e-005			

p) Cr

Interação	3	1660	553,3	7518	35,7	$P<0,0001$
Fator da linha	3	2100	699,9	9510	45,16	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	889,2	889,2	12082	19,13	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,5888	0,0736			

r) Li

Interação	3	0,0614	0,0204	409,3	29,14	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,1485	0,0495	990	70,48	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0004	0,0004	8	0,1898	$P=0,0222$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

s) Pb

Interação	3	0,7243	0,2414	4829	48,51	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,3523	0,1174	2349	23,6	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,416	0,416	8321	27,87	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,004	5e-005			

t) Rb

Interação	3	167,9	55,98	525,7	1581	$P<0,0001$
Fator da linha	3	842,3	280,8	2637	7931	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	50,98	50,98	478,7	4,8	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,8519	0,1065			

v) Se

Interação	3	43,88	14,63	253,4	22,36	$P<0,0001$
Fator da linha	3	126,4	42,15	731,2	64,43	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	25,48	25,48	442	12,98	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,4611	0,05764			

w) Sr

Interação	3	147,9	49,31	348,3	1269	$P<0,0001$
Fator da linha	3	222,2	74,08	523,2	19,06	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	794,8	794,8	5613	68,16	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,133	0,1416			

x) Ti

Interação	3	11,16	3,721	20,21	54,14	$P=0,0004$
Fator da linha	3	8,34	2,783	15,12	39,74	$P=0,0012$
Faor da coluna	1	0,023	0,0232	0,1263	0,110	$P=0,7315$
Resíduos	8	1,473	0,1841			

y) Tl

Interação	3	1827	608,9	2763	1386	$P<0,0001$
Fator da linha	3	3514	1171	5315	26,66	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	7840	7840	35574	59,47	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,763	0,2204			

z) V

Interação	3	0,1905	0,0634	1270	23,95	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,4561	0,152	3041	57,36	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,1482	0,1482	2965	18,64	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

Tabela 6. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, fator da linha e fator da coluna nos parâmetros de teor de macro e micronutrientes da raiz de plântulas de *E. urograndis*. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) N						
Interação	3	11,66	3,887	777,42	28,6	$P<0,0001$
Fator da linha	3	23,01	7,669	153,37	56,43	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	6,101	6,101	122,01	14,96	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			
b) P						
Interação	3	0,0074	0,0024	49,83	45,65	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0042	0,0014	28,5	26,11	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0042	0,0042	84,5	25,8	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			
c) K						
Interação	3	0,4472	0,1491	2981	17,07	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,1556	0,0518	1037	5,97	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	2,016	2,016	4032	76,97	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			
d) Ca						
Interação	3	0,01223	0,0041	59,73	50,19	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0098	0,0032	47,85	40,21	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0018	0,0018	26,27	7,35	$P=0,0009$
Resíduos	8	0,00055	6,875e-005			
e) Mg						
Interação	3	0,053	0,0176	353,3	69,46	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0033	0,0011	22	4,32	$P=0,0003$
Faor da coluna	1	0,0196	0,0196	392	25,69	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

f) S

Interação	3	0,0284	0,0094	189,8	32,59	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0284	0,0068	136,5	23,43	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0380	0,0380	760,5	43,52	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

f) Si

Interação	3	34329	114,43	228,86	13,24	$P<0,0001$
Fator da linha	3	105930	353,10	706,20	40,85	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	11925	119025	238,050	45,9	$P<0,0001$
Resíduos	8	4	0,5			

g) Fe

Interação	3	45564	14188	35964	56,92	$P<0,0001$
Fator da linha	3	11091	36971	93717	14,83	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	21124	21124	53547	28,25	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,3156	0,3945			

h) B

Interação	3	4484	1495	6446	19,55	$P<0,0001$
Fator da linha	3	7496	2499	10777	32,67	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	10960	10960	47267	47,77	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,855	0,2319			

i) Mn

Interação	3	57853	19284	10939	25,19	$P<0,0001$
Fator da linha	3	79726	2657	15076	34,72	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	92064	92064	52227	40,09	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,41	0,1763			

j) Na

Interação	3	0,4241	0,01417	149,8	31,26	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,01079	0,0035	38,05	7,93	$P<0,0001$

Faor da coluna	1	0,08194	0,0819	866.5	60,25	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0007	9,456e-005			

k) Zn

Interação	3	14346	4782	33272	18,27	$P<0,0001$
Fator da linha	3	22352	7451	51840	28,47	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	41802	4180	29084	53,25	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,15	0,1437			

l) Cu

Interação	3	88,7	29,57	186,9	61,01	$P<0,0001$
Fator da linha	3	55,25	18,42	116,4	38,01	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,164	0,164	1,037	0,1128	$P=0,3383$
Resíduos	8	1,265	0,1582			

m) Ni

Interação	3	26,36	8,787	113,1	21.32	$P<0,0001$
Fator da linha	3	89,85	29,95	385,5	72.67	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	6,799	6,799	87,53	5,5	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,6214	0,0776			

n) Mo

Interação	3	49,12	16,37	650,9	49,33	$P<0,0001$
Fator da linha	3	35,39	11,8	468,9	35,53	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	14,88	14,88	591,5	14,94	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,2012	0,02516			

o) Al

Interação	3	12258	40862	85946	40,06	$P<0,0001$
Fator da linha	3	15111	50370	10594	49,38	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	32312	32312	67963	10,56	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,3803	0,0475			

p) Be

Interação	3	0,0092	0,0030	61,83	10,31	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,0562	0,0187	375,2	62,55	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0240	0,0240	480,5	26,7	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

q) Bi

Interação	3	18,71	6,236	31180	60,17	$P<0,0001$
Fator da linha	3	1,091	0,3635	1818	3,508	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	11,29	11,29	56448	36,31	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0016	0,0002			

r) Cd

Interação	3	0,9237	0,3079	1296	61,17	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,2305	0,0768	323,4	15,26	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,354	0,354	1491	23,44	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0019	0,0002			

s) Cr

Interação	3	51754	172513	73690	68,11	$P<0,0001$
Fator da linha	3	159918	53062	22665	20,95	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	83167	83167	35525	10,94	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,873	0,2341			

t) Li

Interação	3	0,1379	0,0459	919,2	31,71	$P<0,0001$
Fator da linha	3	0,2953	0,0984	1969	67,91	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	0,0012	0,0012	24,5	0,2818	$P=0,0011$
Resíduos	8	0,0004	5e-005			

u) Pb

Interação	3	2,933	0,9775	2172	39,4	$P<0,0001$
Fator da linha	3	3,114	1,038	2306	41,84	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	1,392	1,392	3094	18,71	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,0036	0,0004			

v) Rb

Interação	3	543,8	181,3	888,2	38	$P<0,0001$
Fator da linha	3	411,6	137,2	672,3	28,76	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	474	474	2323	33,13	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,633	0,2041			

w) Se

Interação	3	12555	4185	29402	68,45	$P<0,0001$
Fator da linha	3	3869	1290	9060	21,09	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	1917	1917	13466	10,45	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,139	0,1423			

x) Sr

Interação	3	116,8	38,93	173,5	67,41	$P<0,0001$
Fator da linha	3	47,77	15,92	70,98	27,57	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	6,89	6,89	30,72	3,97	$P=0,0005$
Resíduos	8	1,795	0,2243			

y) Ti

Interação	3	1171	390,2	1626	30,81	$P<0,0001$
Fator da linha	3	259,3	86,43	360,2	6,82	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	2368	2368	9867	62,32	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,92	0,24			

z) Tl

Interação	3	5573	1858	7913	86,95	$P<0,0001$
Fator da linha	3	207,3	69,09	294,3	3,234	$P<0,0001$
Faor da coluna	1	627,5	627,5	2673	9,79	$P<0,0001$
Resíduos	8	1,878	0,2347			

z-1) V

Interação	3	26,91	8,969	77,45	18,21	$P<0,0001$
Fator da linha	3	89,72	29,91	258,3	60,73	$P<0,0001$

Faor da coluna	1	30,2	30,2	260,8	20,44	$P<0,0001$
Resíduos	8	0,9264	0,1158			

Tabela 7. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação dos parâmetros fisiológicos (índice SPAD) das folhas de plântulas de *E. urograndis*. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) Índice SPAD						
Interação	3	117	38,98	20,12	12,01	P<0,0001
Tratamentos	3	395,6	131,9	68,04	40,63	P<0,0001
Inoculação	1	461,8	461,8	238,3	47,43	P<0,0001
Resíduos	19	36,82	1,938			

Tabela 8. Análise de variância (ANOVA) dos efeitos da interação, tratamentos e inoculação dos parâmetros fisiológicos (respostas fotossintéticas) das plântulas de *E. urograndis*. Grau de liberdade (GL), soma dos quadrados (SQ), quadrado médio (QM), teste F (F), % total de variação (%TV) e valor de P (P).

Coeficientes	GL	SQ	QM	F	%TV	P
a) A						
Interação	3	4,71	1,571	7,30	0,8782	P=0,0017
Tratamentos	3	297,1	99,05	460,5	55,37	P<0,0001
Inoculação	1	241	241	1120	44,9	P<0,0001
Resíduos	20	4,301	0,21			
b) gs						
Interação	3	0,01	0,003	9,06	5,48	P=0,0006
Tratamentos	3	0,08	0,027	63,32	38,26	P<0,0001
Inoculação	1	0,09	0,096	225,7	45,45	P<0,0001
Resíduos	19	0,008	0,0004287			
c) E						
Interação	3	0,007	0,002	1,69	0,90	P=0,2055
Tratamentos	3	0,434	0,144	95,91	51,12	P<0,0001
Inoculação	1	0,346	0,346	229,2	40,71	P<0,0001
Resíduos	17	0,0256	0,00151			
d) iWUE						
Interação	3	0,7956	0,2652	3,84	1,124	P=0,0300
Tratamentos	3	40,11	13,37	194	56,68	P<0,0001
Inoculação	1	28,75	28,75	417,4	40,64	P<0,0001
Resíduos	16	1,102	0,068			
e) A/Ci						
Interação	3	0,0009	0,0003	100,5	12,1	P<0,0001
Tratamentos	3	0,0025	0,0008	260	31,29	P<0,0001
Inoculação	1	0,0045	0,0045	1395	55,97	P<0,0001
Resíduos	16	5,267e-005	3,292e-006			

f) Ci/Ca

Interação	3	0,026	0,0088	9,036	6,96	P=0,0010
Tratamentos	3	0,117	0,0390	39,86	30,74	P<0,0001
Inoculação	1	0,2217	0,2217	226,3	58,18	P<0,0001
Resíduos	16	0,0156	0,0009			

g) PI

Interação	3	6791	2263	104,7	4,64	P<0,0001
Tratamentos	3	6241	2080	962,7	42,68	P<0,0001
Inoculação	1	8786	8786	4066	60,09	P<0,0001
Resíduos	26	4970	2161			

h) Fv/Fm

Interação	3	0,1543	0,0514	599,2	15,06	P<0,0001
Tratamentos	3	0,3886	0,1295	1509	37,91	P<0,0001
Inoculação	1	0,241	0,241	2887	23,51	P<0,0001
Resíduos	18	0,001545	8,585e-005			
