

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS
MESTRADO PROFISSIONAL

**APLICAÇÃO DE EUCALIPTO COMO ESPÉCIE BIOINDICADORA EM PROCESSO
DE FITORREMEDIAÇÃO DE Cu E Zn EM SOLOS CONTAMINADOS**

GUSTAVO DUARTE SILVA

ORIENTADORA: Profa. Dra. Danielle Goveia

ARARAQUARA – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

APLICAÇÃO DE EUCALIPTO COMO ESPÉCIE BIOINDICADORA EM PROCESSO DE
FITORREMEDIAÇÃO DE Cu E Zn EM SOLOS CONTAMINADOS

GUSTAVO DUARTE SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Danielle Goveia

ARARAQUARA - SP

2021

S586a Silva, Gustavo Duarte.
Aplicação de eucalipto como espécie bioindicadora em processo de
fitorremediação DE Cu e Zn em solos contaminados / Gustavo Duarte
Silva. – Araraquara: [S.n.], 2021.
53 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual
Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e
Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientadora: Danielle Goveia.

1. Bioindicador. 2. Metais. 3. Descontaminação de solo. I. Goveia,
Danielle, orient. II. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: APLICAÇÃO DE EUCALIPTO COMO ESPÉCIE BIOINDICADORA EM PROCESSO DE FITORREMEDIAÇÃO DE Cu E Zn EM SOLOS CONTAMINADOS

AUTOR: GUSTAVO DUARTE SILVA

ORIENTADORA: DANIELLE GOVEIA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. DANIELLE GOVEIA (Participação Virtual)
Coordenadoria de Curso de Engenharia de Produção / UNESP Câmpus de Itapeva

Profa. Dra. LUCIANA CAMARGO DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Física, Química e Matemática / Universidade Federal de São Carlos - UFSCar - Sorocaba

Prof. Dr. AUGUSTO BATAGIN NETO (Participação Virtual)
Coordenadoria de Curso de Engenharia de Produção / UNESP Câmpus de Itapeva

Araraquara, 16 de abril de 2021

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Danielle Goveia por todo o apoio e incentivo desde a minha iniciação científica, sem a qual não teria conhecimento desta área de pesquisa, e a todos os professores que contribuíram para conclusão desta dissertação.

À UNESP-Campus Experimental de Itapeva pela disponibilização do laboratório e de todos os equipamentos necessários para a realização da pesquisa.

Agradeço também a todos os técnicos e funcionários do Campus Experimental de Itapeva que me auxiliaram no laboratório.

À CAPES: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

À seção de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, Unesp-Campus Araraquara, em especial à servidora Claudia Lúcia Molina.

Aos meus pais José Roberto da Silva e Flora Vicente Duarte.

RESUMO

O uso de bioindicadores apresenta a vantagem de possibilitar a detecção de potenciais poluentes de forma rápida, contínua e com baixo custo. Algumas espécies apresentam grande potencial para esse fim, podendo ser apropriadas para a revegetação de áreas contaminadas e ainda propiciar retorno econômico. Ainda existem poucos estudos sobre o *Eucalyptus spp.*, que é a principal espécie arbórea da silvicultura brasileira e possui grande potencial para fitoestabilizar solos contaminados. Neste trabalho foi realizada a montagem de um sistema, a fim de determinar a capacidade de detecção de contaminantes Zinco e Cobre (Zn e Cu) presentes no solo com o uso de enxertos de *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*. Os sistemas foram montados com solos preparados com os metais e amenizantes contendo elevados teores de matéria orgânica. O processo de biomonitoramento foi avaliado pela concentração de metais nas plantas anterior ao processo de fitorremediação. Após o período de contato do sistema solo-planta foi determinada a concentração de metais, no solo, raiz, caule e folhas. Todos os parâmetros estudados foram submetidos a análises estatísticas paramétricas usuais, com os dados agrupados em planilhas eletrônicas e submetidos à análise de variância. O índice de translocação foi determinado para averiguar o potencial uso desta espécie como bioindicador de contaminação de solo. Os resultados obtidos sugerem que o biomonitoramento de Cu por espécies de *Eucalyptus Urograndis* é uma alternativa viável e que o biochar favorece o uso da planta para este fim.

Palavras-chave: Bioindicador; metais; descontaminação de solo.

ABSTRACT

The use of bioindicators has the advantage of enabling the continuous detection of potential pollutants quickly and at low cost. Some species of seedlings have great potential for this purpose, and may be appropriate for the revegetation of contaminated areas and still provide economic return. In this work, the assembly of a system was carried out in order to determine the detection capacity of contaminants Zinc and Copper (Zn and Cu) of the soil using grafts of *Eucalyptus urophylla* and *Eucalyptus grandis*. The systems were assembled with contaminants (Cu and Zn) and softeners (peat and biochar). The metal content (zinc and copper) in the plants before the process was determined by sampling (choosing plants at random) and the metal content in the soils was determined through physical-chemical characterization and laboratory tests. After a contact period of 3 months, the concentration of metals in the plant parts and in the soil was determined. All parameters studied were subjected to usual parametric statistical analysis, with the data grouped in electronic spreadsheets and subjected to analysis of variance. The translocation index was determined to ascertain the potential use of these species as a bioindicator of soil contamination. The results suggests that biomonitoring Cu through seedlings is a viable alternative and biochar enhances the use of the plant for this purpose.

Keywords: Bioindicator; metals; soil remediation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização da 16ª. Região Administrativa do Estado de São Paulo, com sede no município de Itapeva-SP	15
Figura 2 - Rede de autores em destaque gerada pelo software VOSviewer (versão 1.6.15) com a busca pela palavra “Bioindicators”, período 2016 - 2019 catalogados na Web of Science	25
Figura 3 - Jornais com maior número de citações	26
Figura 4 - Principais periódicos que servem como fundamentação teórica	27
Figura 5 - Representação dos artigos com relação às palavras chave	28
Figura 6 - Local de coleta do solo	30
Figura 7 - Mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> produzida pela Eucapinus Mudas Florestais.	32
Figura 8 - Representação do sistema	33
Figura 9 - Sistema solo-planta inicial (à esquerda) e sistema solo-planta final (à direita)	38
Figura 10 - Concentração média de cobre no sistema radicular dos grupos amostrais	41
Figura 11 - Concentração média de zinco no sistema radicular dos grupos amostrais	42
Figura 12 - Concentração média de zinco nas folhas dos grupos amostrais	43
Figura 13 - Concentração média de cobre nas folhas dos grupos amostrais	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para silvicultura	14
Tabela 2 - Lista de valores orientadores para solos e para águas subterrâneas	16
Tabela 3 - Caracterização físico química do solo coletado	36
Tabela 4 - Quantificação dos metais no solo antes e após a fitorremediação	38
Tabela 5 - Concentração média de cobre no sistema radicular dos grupos amostrais	40
Tabela 6 - Concentração média de zinco no sistema radicular dos grupos amostrais	43
Tabela 7 - Concentração média de zinco do sistema radicular dos grupos amostrais	45
Tabela 8 - Concentração média de cobre nas folhas dos grupos amostrais	46
Tabela 9 - Índices de translocação dos grupos amostrais	48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	12
3. REVISÃO DA LITERATURA	13
3.1 Desenvolvimento da silvicultura e aplicação em biomonitoramento	13
3.2. Bioindicadores	16
3.3. Contaminação de metais em solo	19
3.4. Metodologias de recuperação de solo	21
3.5. Visualização de redes bibliométricas em relação ao tema “Bioindicadores”	22
3.6. Matéria orgânica no solo	28
4. METODOLOGIA	30
4.1. Amostragem e preparação do solo	30
4.2. Preparação dos bioindicadores	31
4.3. Caracterização físico-química e determinação de metais	34
4.4. Índice de translocação	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1. Caracterização do solo da matéria orgânica	36
5.2. Análise dos grupos amostrais	38
5.3. Índice de translocação	46
6. CONCLUSÃO	48
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. INTRODUÇÃO

Bioindicador é um organismo vivo que, devido à sua característica ou abundância, indicam alterações do ambiente. Algumas espécies são sensíveis à poluição e apresentam alteração específica em seu desenvolvimento ao entrar em contato com um contaminante. Um indivíduo, espécie individual ou até mesmo uma comunidade inteira poderá ser aplicada em estudos de monitoramento ambiental. Como o indivíduo tem alta capacidade de adaptação, são usados para avaliar o nível de contaminação do ambiente, em um processo de detecção da poluição ambiental.

Os bioindicadores também apresentam potencial de aplicação em monitoramento durante o tratamento de solos contaminados. Entre as principais metodologias de remediação ambiental destaca-se a dessorção térmica, aeração *in-situ*, incineração e processos oxidativos avançados (VAN HULLEBUSCH et al., 2020). Infelizmente estes processos não possuem somente o custo elevado, mas também são onerosos e trazem impactos significativos ao ambiente. Sendo necessário o emprego de tratamentos ambientalmente seguros.

A biorremediação é o processo de remediação de solos contaminados por organismos vivos, segundo a etimologia (*bio+remediação*), tais como microrganismos, fungos, plantas, algas ou enzimas. Algumas espécies tem a capacidade de se adaptar ao ambiente, interagindo simbioticamente com o contaminante e assim, reduzindo-os à níveis seguros. O processo de biorremediação envolvendo o uso de espécies arbóreas envolvem de forma integrada todo o sistema solo-planta e matéria orgânica presente no sistema. A matéria orgânica é complementar ao processo, interferindo na disponibilidade dos contaminantes.

Muitos estudos envolvendo a remediação são em sua maioria aplicados em espécies de pequeno porte, com ciclo de vida de poucos meses. A maior parte das pesquisas é realizada em condições experimentais, para entender a fisiologia da planta, como foi observado por Wei (2021).

Existe também um alerta em relação ao cultivo de alimentos em solos contaminados feita por Haller e Jon (2020). Os autores relatam que a necessidade de soluções de remediação para campos poluídos é cada vez mais urgente, uma vez que muitos agricultores atualmente operam em solos poluídos, considerando a escassez de solo cultivável, à medida que se aumenta a demanda por alimentos em virtude do crescimento demográfico. Os autores sugerem o plantio de espécies não comestíveis concomitante ao cultivo da espécie comestível. Onde a espécie não comestível deve apresentar um maior potencial biorremediador. O estudo evidencia a necessidade de um processo remediador com um retorno econômico assimilado.

A silvicultura brasileira é uma atividade amplamente empregada pelas condições favoráveis de solo e clima, pela disponibilidade de área cultivável e pela disponibilidade de profissionais com o conhecimento técnico necessário. Nesse setor se destaca o cultivo de *Eucalyptus spp.* e *Pinus spp.* Por exemplo, em 2012 a área cultivada era, respectivamente, de 5 milhões de ha e 1,5 milhões de ha (ABRAF, 2013). Em um relatório estatístico mais recente IBÁ (2020) aponta que foram destinados para a indústria em 2019, 154,2 milhões de metros cúbicos de *Eucalyptus spp.* e 52,5 milhões de metros cúbicos de *Pinus spp.*, que são as principais matérias primas da produção de papel e celulose.

Estudos envolvendo espécies que não afetam a cadeia trófica e que geram o retorno econômico são atraentes para estudos de descontaminação do solo. Silva (2016) avaliou o processo de biorremediação de cobre e zinco em escala piloto usando a espécie *Pinus elliottii*. A espécie agiu como fitoestabilizadora nas condições testadas, sendo observada uma redução de metais no solo e aumento de metais na parte aérea da planta durante o processo de fitorremediação.

Assim, buscando reestabelecer o uso de solos contaminados por metais por meio de espécies com ciclo de vida relativamente longo, não comestível e com valor econômico agregado, selecionamos o eucalipto como espécie biorremediadora. A avaliação da concentração dos contaminantes no solo,

raiz, caule e folhas, foi considerada para se identificar o potencial desta espécie como bioindicadora durante o processo de remediação ambiental em solos contaminados por metais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a tolerância, o acúmulo e a distribuição de diferentes concentrações de zinco e cobre em mudas de *Eucalyptus urograndis* para avaliar o potencial bioindicador da espécie durante o processo de descontaminação ambiental do solo.

2.2 Objetivos específicos

Para que o objetivo principal seja atingido os seguintes objetivos específicos foram considerados:

- a) Amostragem e caracterização da amostra controle;
- b) Preparação dos sistemas solo-planta, com solo contaminado com sais de Zinco e Cobre e enxertos de eucalipto;
- c) Preparação dos sistemas solo-planta-amenizante, com solo contaminado com sais de Zinco e Cobre e mudas de *Eucalyptos urograndis*;
- d) Finalização do cultivo após 4 meses de processo de biorremediação;
- e) Determinação da concentração de metais no solo, raiz, caule, folhas;
- f) Avaliar o potencial bioindicador da espécie através do cálculo de índice de translocação.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Desenvolvimento da silvicultura e aplicação em biomonitoramento

Nas últimas décadas o Brasil vem apresentando um crescimento na silvicultura que foi estimulado pelas leis ambientais e pela exportação. A silvicultura está relacionada ao cultivo de florestas, seja para extração de resina, geração de energia, ou para a indústria de papel, celulose, construção e movelaria.

Em 2020 a produção de madeira no Brasil aumentou cerca de 7,5%, atingindo uma produção de 5,37 milhões de toneladas no terceiro semestre de 2020 segundo o relatório IBÁ (2020). Em especial, o avanço de áreas com reflorestamento de eucaliptos é cada vez mais notável na região de Itapeva – SP, região onde esta pesquisa foi conduzida, ocupando grandes e pequenas propriedades. De fato, a silvicultura é a principal tendência identificada na região como pode ser observado na Tabela 1, que apresenta os dados recentes obtido pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021).

Tabela 1 - Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para silvicultura.

Região	Classificação	Área Silvicultura (hectare)	Plantio Pinus (hectare)	Plantio Eucalipto (hectare)	Carvão Vegetal (tonelada)	Lenha (m³)	Madeira em Tora (m³)	Resina (tonelada)
Capão Bonito	1	54.472	4.046	50.000	-	3.100	317.859	5.500
Itapeva	2	36.076	20.000	16.076	29.800	13.800	157.240	12.500
Itatinga	3	35.038	38	35.000	-	500	465.000	-
Buri	4	32.568	17.000	15.000	-	-	870.000	9.300
Itararé	5	32.100	4.600	27.500	157	-	933.250	780
São Paulo	3*	1.181.857	214.411	963.285	119.466	4.726.020	19.290.400	78.649
Brasil	-	9.983.095	1.979.604	7.616.184	6.001.529	51.179.751	130.957.918	126.656

*Classificação do Estado no panorama nacional.

Fonte: Adaptado de IBGE, 2021

Dos cinco municípios listados com maior área destinada à silvicultura no Estado de São Paulo, apenas Itatinga não pertence à 16ª Região Administrativa do Estado de São Paulo, com sede administrativa no município de Itapeva. O município de Capão Bonito ocupa o primeiro lugar, se destacando como o município com maior área destinada ao cultivo de floresta no Estado. O município de Itapeva é o maior produtor de carvão vegetal do estado. A produção de resina tem forte influência da região, sendo Itapeva o maior produtor, seguido do município de Buri, no ranking estadual. Destaque

também na produção de resina para o município de Itapeva que apresentou a maior produção deste derivado no país. A Figura 1 apresenta o mapa com a localização das cidades citadas na 16ª. Região Administrativa do Estado de São Paulo.

Fonte: Adaptado do Instituto Geográfico e Cartográfico (2021)

dada a sua aplicação na confecção de bens duráveis, a atuação destas espécies permite a fixação de metais por longos períodos, podendo atuar como relevantes bioacumuladores.

Muitos estudos voltados para a recuperação do solo com plantas estão sendo publicados e alguns autores estão buscando identificar a viabilidade de utilizar espécies com elevado potencial econômico para esse fim (SILVA, 2016). *Eucalyptus spp.*, é a principal espécie arbórea da silvicultura brasileira e possui grande potencial para fitoestabilizar solos contaminados com cobre (MARCO et al, 2017). A atual legislação brasileira exige que áreas degradadas devam ser recuperadas. A recuperação de áreas contaminadas por metais visa minimizar o envenenamento dos nichos ecológicos e da população humana, além de restaurar a biodiversidade dos ecossistemas. O método de revegetação apresenta vantagens devido a sua natureza permanente, combinada aos baixos custos de manutenção, a proteção contra a erosão eólica, erosão hídrica, maior estruturação dos solos, aumento da fertilidade e melhoria da estética da área. Além do impacto econômico, por ser uma fonte de matéria prima, a atividade florestal contribui para a preservação ambiental pela captura de dióxido de carbono e por reduzir o desmatamento de áreas nativas. O cultivo no Brasil também contribui para recuperação de recursos hídricos e de solos (COUTINHO; CORTE, *et al.*, 2017).

3.2. Bioindicadores

Bioindicadores podem ser definidos como quaisquer seres vivos que tem alguma interação com o ambiente poluído, permitindo verificar a presença de um agente poluente de maneira simples e econômica (CETESB, 2018). A maioria das publicações sobre o tema utiliza insetos, aves e vegetais como bioindicadores (BAGLIANO, 2012).

Esses seres vivos podem ser utilizados de forma ativa, quando são inseridos no local onde se espera estudar a presença do analito, ou passiva, quando são utilizados seres que habitam a região naturalmente, com isso também é possível verificar o histórico ambiental do local (CETESB, 2018).

Bagliano (2012) utiliza o termo assimetria flutuante para descrever anomalias hereditárias ou que são provocadas pela exposição a um agente nocivo. Para o autor, os vegetais e os insetos têm grande participação nos estudos por apresentarem um ciclo de vida curto, representando bioindicadores rápidos e econômicos.

Em particular, as plantas estão sendo estudadas como potenciais bioindicadores em diversas áreas como: indicadoras do nível de poluição do ar (YILMAZ; ZENGİN, 2004), de metais preciosos para auxiliar na prospecção (biogeoquímica) dos minérios (RESENDE; PINHO, 2011), de contaminação por radiação (KOVALCHUK; KOVALCHUK, et al., 1998), de presença de metais potencialmente tóxicos em manguezais (RAMOS; GERALDO, 2007), de metais pesados em outros ecossistemas aquáticos (MARTINS; BOAVENTURA, 2004), de hidrocarbonetos oriundos de combustíveis fósseis, dentre outras.

Pedroso (2007 apud MAKI; SHITSUKA, et al. 2013) apresenta quatro possíveis comportamentos de seres bioindicadores de acordo com as suas interações com o ambiente poluído, como está detalhado no Quadro 1. Neste contexto as plantas podem ser classificadas como bioindicadoras, biosensoras, bioarticuladoras e biointegradoras.

Quadro 1 - Possíveis características das plantas bioindicadoras.

Tipo	Característica
Bioindicadoras	Apresentam sintomas visíveis como necroses, cloroses e distúrbios fisiológicos como redução no crescimento, redução no número e diâmetro das flores.
Biosensoras	Reagem aos efeitos dos poluentes com efeitos não visíveis, apresentando alterações bioquímicas, fisiológicas e celulares.
Bioarticuladoras	São plantas que também não apresentam sintomas visíveis, sendo menos sensíveis aos poluentes, porém, dentro dos seus tecidos podem acumular poeira e gases.
Biointegradoras	Indica o impacto da poluição por meio de mudanças populacionais como aparecimento, desaparecimento ou mudança na densidade da população ou até de comunidades. Dentre os organismos bioindicadores, destacam-se os líquens, os musgos e as plantas superiores que têm sido amplamente empregadas como métodos complementares de monitoramento da qualidade do ar e da presença de poluentes.

Fonte: Pedroso (2007 *apud* MAKI; SHITSUKA, et al. 2013).

Maki, Shitsuka, et. al. (2013) defendem que plantas bioacumuladoras apresentam vantagens porque podem aprisionar internamente os contaminantes, auxiliando na despoluição do local, além disso permitem análises quantitativas posteriores. As plantas com valor econômico (*N. tabacum*) e alimentício (*P. vulgaris* e *M. indica*) também se destacam por terem outras aplicações que viabilizam seu cultivo.

As plantas bioacumuladoras, não se limitando a sua capacidade de atuar como biossensores, podem auxiliar na descontaminação de solos com metais. Outras tratativas que podem ser alternativas para recuperação de solos contaminados são apresentadas nos tópicos seguintes.

3.3. Contaminação de metais em solo

A contaminação de metais potencialmente tóxicos no solo pela atividade antrópica começou a ter impactos significativos com a Revolução Industrial, quando se tinha pouco conhecimento dos riscos que eles apresentavam. Atualmente, com um conhecimento maior dos problemas ambientais decorrentes da contaminação, os solos estão paulatinamente sendo descontaminados (MARTINS; BOAVENTURA, 2004).

É importante destacar que a contaminação não ocorre somente pela atividade humana, como pelo descarte de resíduos urbanos e industriais, ela também ocorre devido a fenômenos naturais, como a lixiviação e desagregação de rochas ígneas ou metamórficas (MARTINS; BOAVENTURA, 2004).

Nos solos contaminados a disponibilidade dos metais é afetada principalmente pelo pH, pela composição, espécies e concentrações dos elementos e presença de ligantes e íons competidores (HARTER; NAIDU, 2001 apud TAVARES, 2009).

No Brasil os níveis de metais nos solos e em águas subterrâneas para fiscalização são estabelecidos pelo CONAMA, Resolução nº 420. Os valores de investigação, concentrações a partir das quais existe risco para a população ou para o ambiente, são subdivididos em agrícola, residencial e industrial, conforme a Tabela 2 (BRASIL, 2009).

Tabela 2 - Lista de valores orientadores para solos e para águas subterrâneas.

Substâncias Inorgânicas	Solo mg Kg ⁻¹			
	Prevenção	Investigação		
		Agrícola APM _{ax}	Residencial	Industrial
Antimônio	8	5	10	25
Arsênio	15	35	55	150
Bário	150	300	500	750
Cádmio	1,3	3	8	20
Chumbo	72	180	300	900
Cobalto	25	35	65	90
Cobre	60	200	400	600
Cromo	75	150	300	400
Mercúrio	0,5	12	36	70
Molibdênio	30	50	100	120
Níquel	30	70	100	130
Prata	2	25	50	100
Selênio	5	-	-	-
Vanádio	-	-	-	1000
Zinco	300	450	1000	2000

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2009

Os metais encontram-se em diferentes formas físico-químicas no ambiente e são influenciados por diversos fatores, como pH, potencial redox, tipos e concentrações de ligantes orgânicos e inorgânicos, material particulado e coloidal. Alguns elementos são considerados essenciais para a vida, tais como Fe, I, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Se, Cr, enquanto outros são considerados não essenciais, por exemplo, As, Cd, Pb, W. Alguns elementos são considerados indispensáveis para a função vital do organismo humano, mas podem ser altamente tóxicos quando em altas concentrações. Selênio e vanádio são exemplos, que quando presentes em altas concentrações são mais tóxicos que alguns não essenciais como tálio e mercúrio (FLORENCE, 1992).

Em especial o cobre no solo em excesso reduz o potencial de desenvolvimento das plantas por atuar nos mecanismos bioquímicos e fisiológicos das plantas, o que pode afetar as organelas celulares e até mesmo impedir a fotossíntese (MENEGAES et al, 2019). E o zinco também pode, em excesso, apresentar toxidez para planta retardando o seu desenvolvimento e até atrasando a produção de plantas frutíferas (MELO et al, 2016).

3.4. Metodologias de recuperação de solo

Tavares (2009) define a remediação como a redução dos teores de contaminantes a níveis seguros, metais essenciais podem, por exemplo, favorecer o desenvolvimento da vida em baixas concentrações e serem tóxicos em concentrações elevadas. O autor descreve como possíveis metodologias para recuperação de locais contaminados o *pump and treat*, extração de vapor do solo (SVE), dessorção térmica, *air sparging*, barreiras reativas permeáveis, incineração, lavagem do solo, a biorremediação e fitorremediação. As técnicas de remediação *in situ* são mais utilizadas por serem economicamente mais viáveis, com destaque para a fitorremediação.

Alguns pré-requisitos para o uso da técnica são elencados por Pires e Souza, et al. (2003): capacidade de absorção, tolerância ao contaminante, retenção do contaminante nas raízes, sistema radicular profundo e denso, alta taxa de crescimento e produção de biomassa, capacidade transpiratória elevada, fácil colheita, elevada taxa de exsudação radicular, resistência a pragas e doenças, fácil controle ou erradicação e a capacidade de desenvolver-se bem em ambientes diversos.

A fitorremediação pode ocorrer por três mecanismos: a fitoextração, a fitodegradação e a fitoestabilização. Na fitoextração os poluentes se acumulam no interior da planta ou passam no seu interior e são volatizados, os resíduos bioacumulados podem ser tratados posteriormente. A fitodegradação é caracterizada pela degradação dos agentes nocivos por enzimas excretadas pelas raízes dos vegetais (nitroredutases, desalogenases, lacases) ou por uma microflora estimulada pelas raízes. E a fitoestabilização consiste na modificação do poluente para uma forma inativa ou retenção do poluente nas plantas ou no solo (PAVANELLI, 2004).

Apesar de possuir uma ampla aplicação, a fitorremediação apresenta algumas limitações como: o tempo requerido para o crescimento das plantas (em alguns casos é necessário ter mais de um ciclo), o alcance radicular da planta, o clima do local, níveis máximos de contaminantes que as plantas suportam, potencial de contaminar a cadeia alimentar, possibilidade da planta fitorremediadora se tornar uma planta daninha e possível necessidade de tratamentos prévios dos solos (Pires, Souza, et. al., 2003).

Por outro lado, essa técnica de recuperação do solo é muito mais viável economicamente por utilizar materiais de baixo custo e por ser realizada no local. Adicionalmente as plantas podem trazer outros benefícios para o solo como a incorporação de matéria orgânica, quando não é necessária a remoção, e a fixação de nitrogênio, tudo sem que as propriedades do solo sejam degradadas.

Neste sentido, muitos autores estão estudando potenciais plantas para serem utilizadas na recuperação dos solos. Algumas espécies que foram apontadas como alternativas para recuperação de

solos com herbicidas, combustíveis fósseis (PAVANELLI, 2016), metais potencialmente tóxicos (SILVA, 2016) e outros poluentes. Porém existe uma escassez de estudos utilizando plantas com potencial bioacumulador na remoção de íons metálicos do solo.

3.5. Visualização de redes bibliométricas em relação ao tema “Bioindicadores”

O Estado da Arte é o nível de desenvolvimento da área científica em diferentes temáticas. Ao se definir um tema e realizar uma pesquisa bibliográfica é possível encontrar um grande volume de trabalhos disponíveis em bancos de dados, muitas vezes até contraditórios. Desta forma torna-se um desafio encontrar artigos condizentes e relevantes na temática escolhida. Sob esse princípio, recentemente, vem se destacando o uso da revisão sistemática da literatura (GALVÃO; PEREIRA, 2014). As revisões bibliográficas sistemáticas são amplamente aplicadas na área da saúde, como a medicina e a psicologia, porém se aplicam a qualquer temática. Embora poucos trabalhos estão disponíveis envolvendo a temática ambiental.

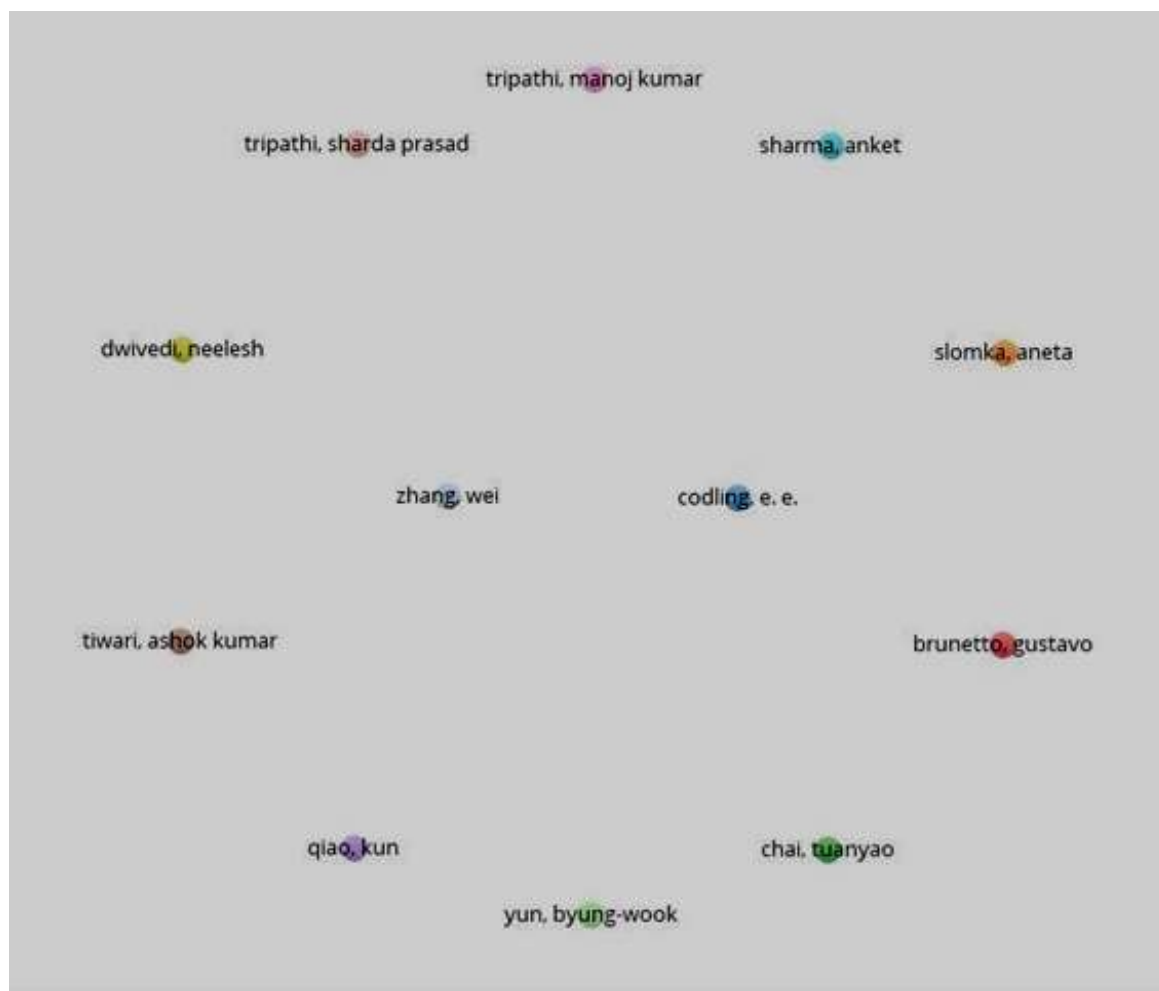
Em uma revisão sistemática o processo de busca de artigos é bem definido, bem como a ferramenta que será usada no processo. As informações são filtradas buscando as informações mais relevantes. Estudos bibliométricos estão ganhando relevância, considerando a crescente número de publicações científicas e a capacidade de usar técnicas para quantificar o processo de comunicação de documentos científicos relevantes para cada área. A combinação de análise de conteúdo com análise bibliométrica tem como objetivo identificar na literatura as tendências, os tópicos e campos mais discutidos e lacunas que podem existir.

O uso do software *VOSviewer* (versão 1.6.15) permite a geração de redes bibliométricas que inclui, periódicos, pesquisadores, publicações individuais, citações e co-citações, usando como base de

dados a *Web of Science*. As redes possibilitam uma avaliação com maior proximidade do real estado da arte envolvendo o uso e aplicação dos bioindicadores.

Os dados foram obtidos através do Portal de Periódicos CAPES/MEC no dia 21/05/2019 as 20:00 hs, acessando a base de dados ISI Web of Science - Coleção Principal (Clarivate Analytics). Esse foi selecionado porque oferece um recurso através do qual um conjunto de metadados pode ser coletado, tais como resumos, autores, instituições, número de citações, referências citadas e o fator de impacto do periódico, entre outros, que são essenciais para a realização de análise bibliométrica. Para o tópico “Bioindicators”, categorizados pela Web of Science em diferentes áreas de pesquisa. A partir desta amostra inicial, usamos alguns filtros para refinar os resultados, conforme descrito abaixo. Para os “Tipos de Documentos”, consideramos os filtros “Artigo” e “Revisão”. Um segundo filtro foi aplicado por área de interesse no item “Categorias do *Web of Science*” foram considerados os filtros “ENVIRONMENTAL”. Os autores com que se destacaram em número de publicações, de um total de 500 artigos catalogados na base de dados *Web of Science*, entre os anos de 2016 e 2019 podem ser visualizados na Figura 2.

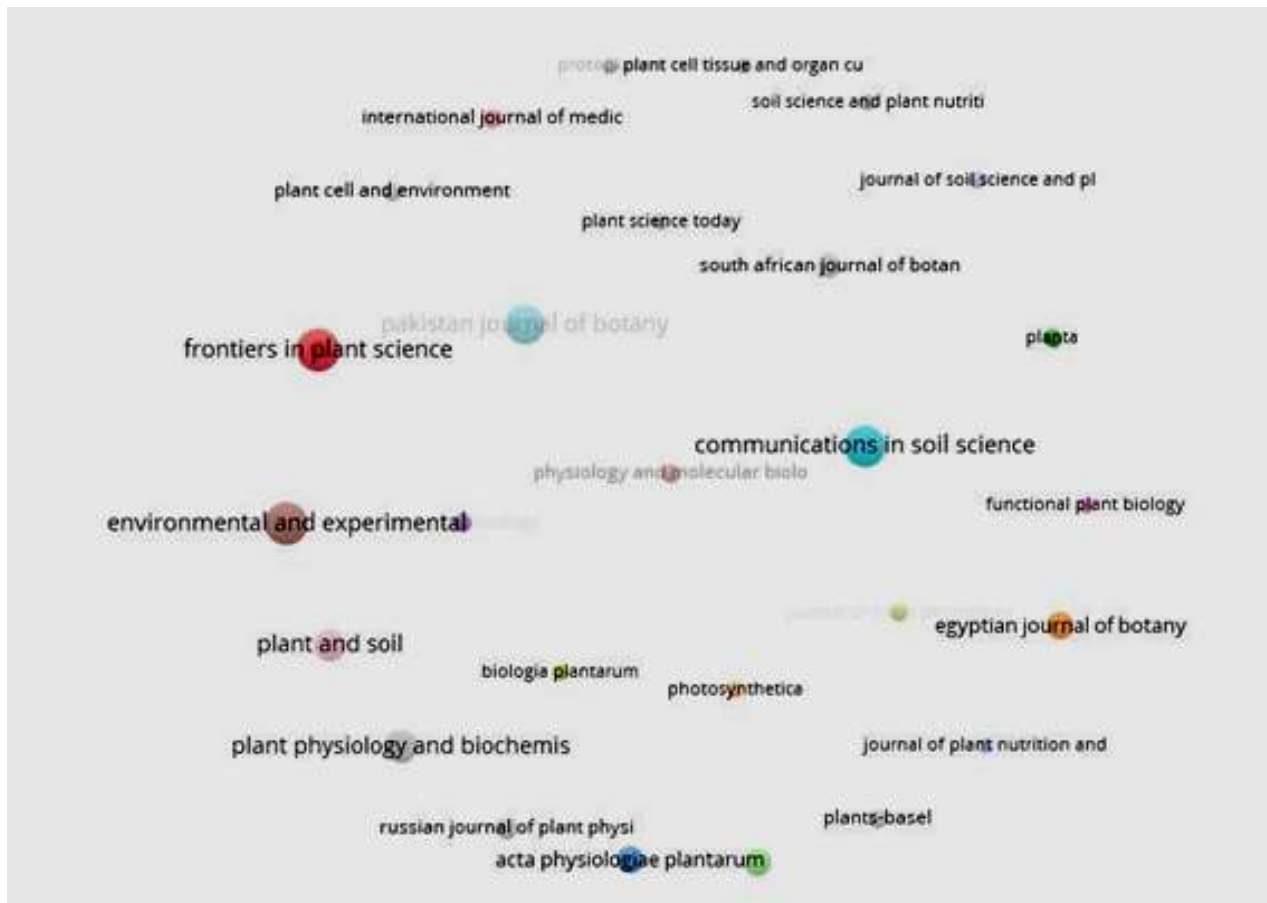
Figura 2 – Rede de autores em destaque gerada pelo software VOSviewer (versão 1.6.15) com a busca pela palavra “Bioindicators”, período 2016-2019 catalogados na *Web of Science*.



Fonte: software VOSviewer (versão 1.6.15)

Com relação aos periódicos se destacam os apresentados na Figura 3 em que pode ser verificado que os periódicos *Frontiers in Plant Science*, *Communications in Soil Science e Environmental and Experimental* têm um número de citações significativamente maior.

Figura 3 – Jornais com maior número de citações.



Fonte: software VOSviewer (versão 1.6.15)

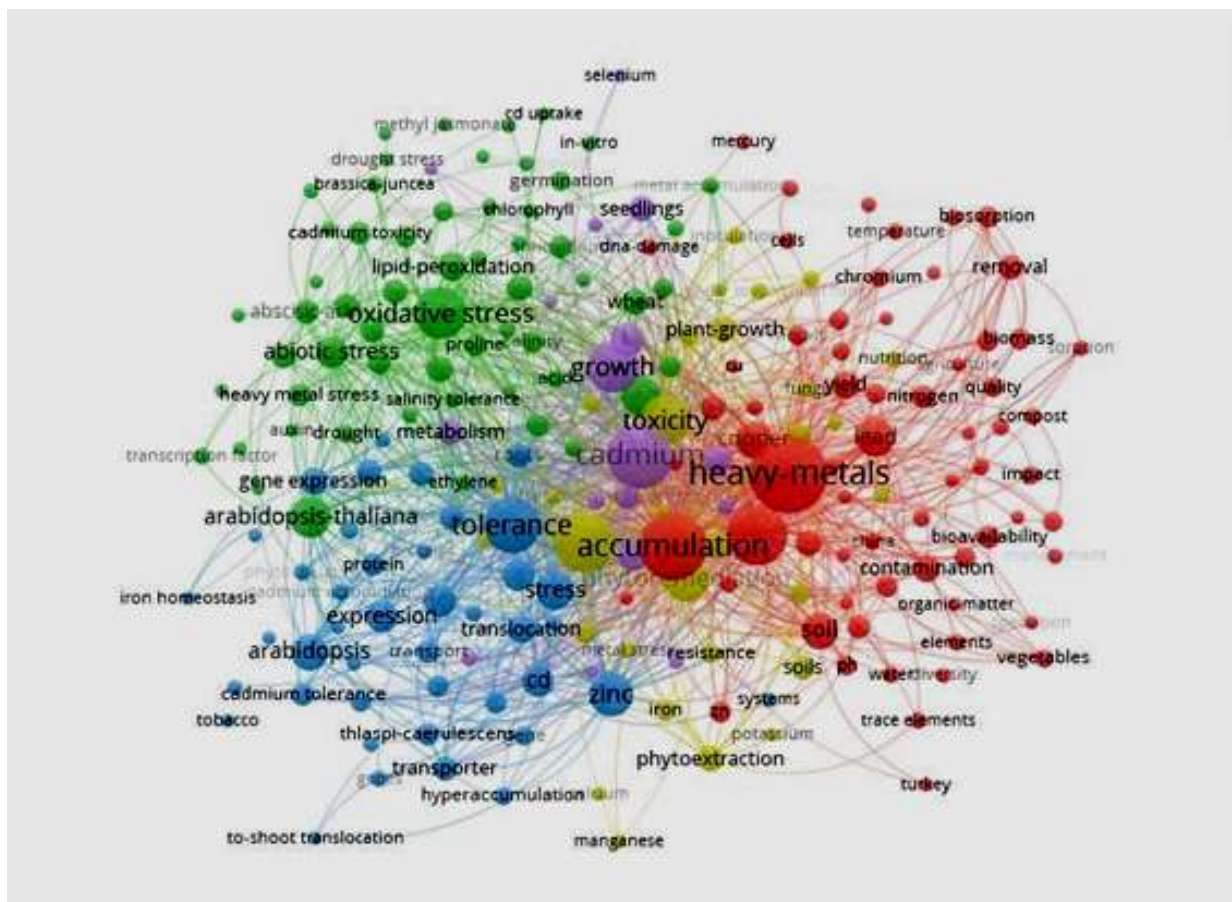
Os principais periódicos que servem como fundamentação teórica para estes autores e suas relações estão representados na Figura 4, onde é possível identificar os periódicos mais citados em cada cluster (representados em cores diferentes), sendo o Plant Physiology o periódico mais relevante. Nesse caso há uma fonte muito ampla de periódicos.

[illegible]

Fonte: software *VOSviewer* (versão 1.6.15)

Analisando as palavras chave dos principais artigos também foi identificado que a maioria dos trabalhos relacionados a bioindicadores estuda a acumulação de metais como está indicado na Figura 5.

Figura 5 – Representação dos artigos com relação às palavras chave.



Fonte: software VOSviewer (versão 1.6.15)

3.6. Matéria orgânica no solo

Tavares (2009) defende que existem divergências sobre quais atributos têm maior influência na adsorção de metais pelo solo, mas que maior parte deles tem forte influência dos fatores: matéria orgânica, Capacidade de Troca de Cátions, superfície específica, o conteúdo de argila e o teor de óxidos.

Os materiais orgânicos podem ser entendidos como agentes amenizantes, substâncias que auxiliam a reduzir os efeitos tóxicos dos metais no solo, porque a biodisponibilidade dos metais é reduzida devido a ligação entre a matéria orgânica e o solo, formando uma fração de metais inerte.

A turfa é um dos principais materiais orgânicos utilizados com essa finalidade. Em especial estudos têm comprovado que tal composto pode agir como um agente amenizante que favorece o crescimento do *Eucalyptus grandis* em solos contaminados com cobre (MARCO, 2017).

No presente estudo pretende-se avaliar o potencial amenizante de um outro composto baseado em carbono, o biochar. O biochar pode ser definido como uma biomassa que foi pirolisada em um ambiente com pouco ou nenhum oxigênio com aplicações na agricultura por melhorar as funções do solo. Este material orgânico pode variar muito a sua composição dependendo da origem dos materiais orgânicos empregados na sua obtenção como madeira (mais comum), estrumes e resíduos de colheita, mas todos são aplicados no solo buscando benefícios como por exemplo: aumentar a produção das plantas, correção do pH (a maioria tem pH neutro a básico), alteração da interação das plantas com contaminantes como herbicidas, incorporação do habitat microbiano e aumento na quantidade de minhocas no solo. Há ainda prejuízos que já foram observados com seu uso, como a perda de solo por erosão, compactação do solo e risco de contaminação (VERHEIJEN et al, 2010).

4. METODOLOGIA

4.1. Amostragem e armazenamento das amostras de solo, turfa e biochar

Os experimentos de montagem e condução dos sistemas de solo-planta foram desenvolvidos em Itapeva, município na região sudoeste do estado de São Paulo, Latitude: 23°57' S Longitude: 23° 57' W, Elevação: 726m, apresentando temperatura média anual de 21,9°C com umidade relativa anual de 76% e índice pluviométrico de 1.467,5 mm.

O solo utilizado foi coletado nos arredores do Campus Experimental de Itapeva, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Figura 6), com trincheiras abertas com cavadeira, na profundidade 0–60 cm (definido pela norma ABNT/NBR 10.007).

Figura 6 - Local de coleta do solo.



Fonte: Acervo pessoal.

Por proporcionar húmus para o solo, que por sua vez fornece estabilidade no pH, a flora que vive nesse ambiente também pode se estabilizar e se desenvolver, visto que não precisará se preocupar com alterações bruscas. Esse é o famoso “poder tampão” que protege essas áreas.

A matéria orgânica fornece estabilidade ao pH do solo, devido ao efeito tamponante, permitindo que a planta possa se estabilizar e se desenvolver. Com o intuito de avaliar a atenuação da toxidez para a planta foram usados como amenizante amostras de turfa e biochar (20% m/m). As amostras de turfa foram coletadas na cidade de Curitiba-PR, na profundidade 0–60 cm (definido pela norma ABNT/NBR 10.007). O carvão vegetal foi produzido pela empresa Maringá Ferro-Liga, localizada na cidade de Itapeva/SP. Foi feita a pirólise de madeira reflorestada de eucalipto e os finos separados por peneiramento. O material foi validado para aplicação na melhoria de solo por Rodrigues (2019) e então denominado biochar.

Todas as amostras foram armazenadas em sacos de polietileno e transportadas até o laboratório, onde foram secas ao ar, trituradas em graal e pistilo de porcelana e peneiradas em 2 mm para retirada das raízes e folhas.

Uma amostra de solo, de turfa e de biochar foram reservadas para a caracterização das propriedades químicas e físicas, como descrito na Seção 4.2.

4.2. Preparação dos bioindicadores

Uma das principais vantagens do uso de Eucalipto é a possibilidade de se empregar técnicas como o enxerto para somar as potencialidades de diferentes espécies, uma muda de *Eucalyptus urophylla* na parte inferior e *Eucalyptus grandis* na parte superior por exemplo pode apresentar a resistência a pragas nas raízes com o bom desempenho para produção de celulose do caule devido a seus elementos anatômicos com rápido crescimento. Além disso, enxertos apresentam bom desenvolvimento

em diferentes regiões com clima e solo particulares (BARBOSA, 2013) e são usados para garantir uma produção mais homogênea e com boa qualidade genética através do aprimoramento contínuo.

Mudas de *Eucalyptus urograndis* com 90 dias foram adquiridas em um viveiro especializado na reprodução de pinus e eucaliptos (Eucapinus Mudas Florestais) localizado na cidade de Itapeva-SP. Foram utilizados enxertos de *Eucalyptus urophylla* (porta-enxerto) e *Eucalyptus grandis* (enxerto) cultivados originalmente para produção de celulose, apresentados na Figura 7. A clonagem de mudas permite a geração de árvores geneticamente iguais, interessante para aplicação industrial, esta característica é também relevante para a avaliação bioindicadora da espécie.

Figura 7 – Mudas de *Eucalyptus urograndis* produzida pela Eucapinus Mudas Florestais.



Fonte: Acervo pessoal.

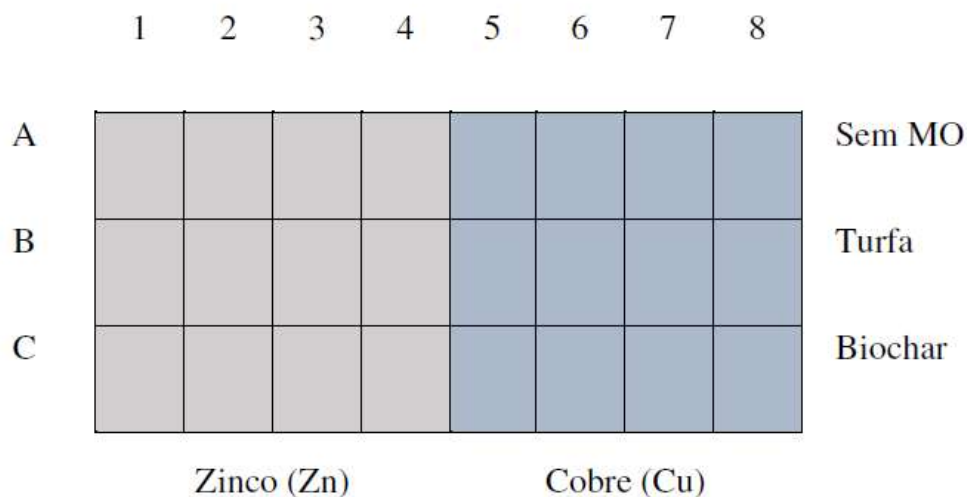
Cobre e zinco são metais presentes em substâncias utilizadas na agricultura no controle de pragas. Considerado pouco tóxico, o sulfato de cobre é um conhecido como fungicida eficiente sendo

utilizado, por exemplo, no combate da doença ferrugem em plantas frutíferas. O zinco, contido no sulfato de zinco, também é aplicado na agricultura. Estes elementos são micronutrientes e considerados metais essenciais para vida e passam a ser contaminantes perigosos no ambiente em altas concentrações (acima dos valores de intervenção agrícola), no caso de descartes ou despejos irregulares de resíduos industriais ou aplicação em excesso de fungicidas. O uso inadequado ou em excesso pode contaminar além do solo, rios e águas subterrâneas por lixiviação e percolação.

A contaminação do solo foi feita através da adição de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e com sulfato de cobre (CuSO_4) na proporção de duas vezes o valor de intervenção agrícola ($10,34 \text{ g kg}^{-1}$ de CuSO_4 e $25,88 \text{ g kg}^{-1}$ de ZnSO_4), como realizado e descrito por Silva (2016).

Para realizar a montagem dos sistemas foi feita uma distribuição espacial específica para facilitar a identificação das amostras, conforme a Figura 8. As amostras numeradas de 1 a 4 tiveram adição de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e as amostras numeradas de 5 a 8 foram contaminadas com sulfato de cobre (CuSO_4). As letras identificam a presença de agentes amenizantes, sendo a turfa relacionada a letra B, o biochar representado pela letra C e as amostras sem matéria orgânica identificadas pela letra A. Dessa forma, cada amostra possui quatro réplicas com a mesma composição e foram cultivadas 4 réplicas de amostras do grupo controle somente com o solo comum que não estão representadas na figura.

Figura 8 - Representação do sistema.



Fonte: Acervo pessoal.

As mudas foram imersas em água por cerca de 30 minutos para a eliminação do solo original. Em seguida, todas as mudas foram transferidas para os recipientes de plantio. Os recipientes foram preparados usando tubos de PVC (14 cm de altura e 50 mm de diâmetro) e sua base foi vedada com uma capa de PVC, material usualmente aplicado em encanamentos. Cada recipiente foi preenchido com 225 g de amostra contendo solo e amenizante.

Os sistemas de solo com bioindicadores, solo/turfa e bioindicadores e solo/biochar e bioindicadores permaneceram em estufa com regas de tempos em tempos.

Após o período de 4 meses, os sistemas foram desmontados. Amostras de solo, caule e folhas foram separadas em sacos plásticos e identificadas para a determinação da concentração de cobre e zinco e posterior avaliação do potencial bioindicador da planta.

4.3. Caracterização físico-química e determinação de metais

A análise do solo, turfa e biochar, quanto as suas propriedades químicas e físicas foram realizadas no LABCELER – Laboratório de Análises Agronômicas.

Carbono e teor de matéria orgânica foram determinados pelo método de Wilkley e Black. O pH foi medido com a leitura de um pHmetro em suspensão de solo, pelo método da solução-tampão SMP. Fósforo, cálcio, magnésio e potássio foram extraídos com resina trocadora de íons e determinado o teor lábil. Fósforo foi determinado por colorimetria; cálcio e magnésio, por espectrofotometria de absorção atômica e potássio por fotometria de chama. Todos os procedimentos estão descritos em detalhes por Raij (2001) e Malavolta (1997), segundo a recomendação do Instituto Agrônomo (IAC).

Foi feita a digestão nítrico-perclórica em solo, folhas e caule, após a digestão, as determinações de cobre e zinco foram determinadas por espectrômetro de absorção atômica com atomização por chama, seguindo as recomendações do fabricante.

4.4. Índice de translocação

Com as concentrações de cobre e zinco na parte aérea e sistema radicular, foi determinado o índice de translocação (IT). Trata-se de um indicador utilizado para analisar a capacidade da planta transportar os íons metálicos do solo para a sua parte aérea que é calculado pela razão da quantidade de metal acumulado na parte aérea (M-PA) pela quantidade acumulada de metal na raiz (M-R) (SILVA, 2016), conforme a Equação 1.

$$IT = M-PA/M-R \quad \text{(Equação 1)}$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do solo e da matéria orgânica

A Tabela 3 ilustra dados de caracterização físico-química do solo, da turfa e do biochar. O solo utilizado no experimento como referência apresenta $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ de cobre, $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ de zinco e pH 7. Os demais micronutrientes e macronutrientes presentes no solo apresentam teores comuns em latossolos.

Tabela 3. Caracterização físico química das amostras de solo, turfa e biochar.

	Parâmetro	Solo	Turfa	Biochar
Macronutrientes	Carbono / g L^{-1}	3	25	3
	Matéria Orgânica / g L^{-1}	5	42	6
	pH	6,6	9,4	13,4
	Enxofre g L^{-1}	0,007	0,301	0,230
	Fósforo mg L^{-1}	0,006	0,389	0,027
	Potássio $\text{mmol}_c \text{ L}^{-1}$	1	97	119,2
	Cálcio $\text{mmol}_c \text{ L}^{-1}$	21	251	843
	Magnésio $\text{mmol}_c \text{ L}^{-1}$	7	82	8
	Capacidade de Troca Catiônica $\text{mmol}_c \text{ L}^{-1}$	36	430	971
Micronutrientes	Boro / mg L^{-1}	0,05	0,84	1,73
	Cobre / mg L^{-1}	0,7	3,9	2,1
	Ferro / mg L^{-1}	8	26	90
	Manganês / mg L^{-1}	1,9	47,7	6
	Zinco / mg L^{-1}	0,3	2,4	0,5

Fonte: autoria própria.

Estes resultados do laboratório são mais relevantes para as amostras de controle, ou seja, as amostras sem adição dos metais e de solo com elevado teor de matéria orgânica (MO), porque representam todo o metal presente no solo. Na análise das outras amostras o percentual de metais após a adição dos outros componentes foi determinado, como está organizado na Tabela 4. Com base nos valores iniciais de concentração dos metais foi calculada a redução percentual de metais nos grupos amostrais. Em todos os casos a concentração dos metais foi reduzida, ou seja, ocorreu a fitorremediação do solo.

Tabela 4 – Quantificação dos metais no solo antes e após a fitorremediação.

Metal	Amostra de solo	Concentração inicial (mg kg ⁻¹)	Concentração final (mg kg ⁻¹)	Variação
Zn	Solo	11,34	11,06	2,47%
Zn	Solo e biochar	11,38	10,61	6,77%
Zn	Solo e Turfa	11,76	11,08	5,78%
Cu	Solo	38,8	35,34	8,92%
Cu	Solo e biochar	39,08	36,68	6,14%
Cu	Solo e turfa	39,44	36,00	8,72%

Fonte: autoria própria.

Nas amostras com zinco é significativo o aumento da remoção de íons do solo na presença de amenizante, sendo o biochar ou a turfa. Esses materiais são ricos em matéria orgânica, e agregam esse composto ao sistema. Assim vamos denomina-los como “matéria orgânica”. Embora a definição de matéria orgânica seja ampla e está presente inclusive na porção solo na ausência dos amenizantes. No entanto, quando analisadas as diferentes estruturas da planta e o índice de translocação o enxerto não

apresenta resultados favoráveis para o biomonitoramento do metal no solo como será discutido nas Seções 5.2 e 5.3. Em contrapartida, as amostras com cobre não tiveram um aumento expressivo da fitorremediação na presença da matéria orgânica, mas, embora não seja sensível ao tipo de matéria orgânica presente, o biochar favorece o uso da planta como bioindicadora como será explicado adiante.

5.2. Análise dos grupos amostrais

Após alguns dias de contato as mudas apresentaram sinais da contaminação, a Figura 9 ilustra parte do sistema logo após o plantio das mudas em comparação com as plantas após duas semanas do experimento. Com o tempo, segundo Marco et al. (2017), as mudas nos solos contaminados com cobre podem ter a capacidade de absorção de água e nutrientes reduzida, uma vez que o excesso de cobre reduz a formação de raízes. Por outro lado, as plantas com turfa tendem a apresentar um desenvolvimento maior porque a turfa adsorve parte do metal do solo e fornece nutrientes para as plantas.

Figura 9 - Sistema solo-planta inicial (à esquerda) e sistema solo-planta final (à direita).



Fonte: Acervo pessoal.

De forma geral, no processo de biorremediação usando plantas, os contaminantes podem ser removidos do solo por fitodegradação, onde o contaminante é metabolizado, se transformado substâncias com menor toxicidade; por fitoextração, onde a planta transfere o contaminante do solo para o seu interior como raiz, caule e folhas; por fitoestabilização, onde o contaminante é estabilizado na raiz da planta, reduzindo assim a sua disponibilidade para o solo em camadas mais profundas; ou por fitovolatilização, onde a planta absorve o contaminante do solo e emite por meio de evapotranspiração.

As plantas do grupo de referência apresentaram um desenvolvimento normal até o final do estudo, mas os demais grupos apresentaram sinais de fitotoxidez como perda de folhas e alteração no desenvolvimento. Em todos os grupos afetados, os efeitos da contaminação se manifestaram inicialmente nas regiões mais próximas ao solo e avançaram até as partes mais altas, fazendo com que as mudas apresentassem um aspecto murcho.

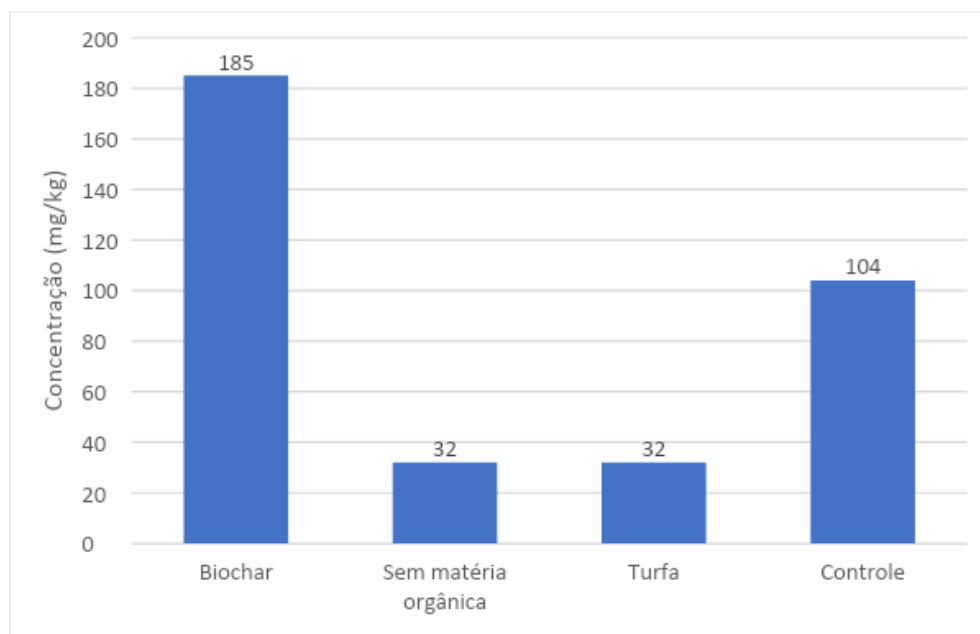
Visualmente não foi possível identificar distinções claras entre os grupos amostrais contaminados com cobre ou zinco, todos apresentaram aspectos de degradação similares. Porém os resultados das análises das partes das plantas apresentam variações significativas como evidenciado na Tabela 5 e na Figura 10 com as análises dos sistemas radiculares.

Tabela 5 – Concentração média de cobre no sistema radicular dos grupos amostrais.

Metal	Amostras de solo	Parte analisada	Concentração (mg kg ⁻¹)
Cu	biochar	raiz	185
Cu	-	raiz	32
Cu	turfa	raiz	32
Controle (sem Cu)	-	raiz	104

Fonte: autoria própria.

Figura 10 – Concentração média de cobre no sistema radicular dos grupos amostrais.



Fonte: autoria própria.

Analisando os resultados dos grupos amostrais contaminados com cobre percebe-se que a concentração média de cobre no sistema radicular das amostras sem MO e com turfa são muito inferiores (32,00 mg.kg⁻¹) à concentração média do grupo de referência (104,00 mg.kg⁻¹). Isso indica

que a absorção dos metais pela planta foi interrompida porque a fitotoxidez foi mais expressiva nestas amostras. A fitotoxidez em plantas contaminadas com Cu geralmente está relacionada a alterações fisiológicas como: a redução do desenvolvimento, necrose e redução do crescimento do sistema radicular.

Por outro lado, as amostras com biochar apresentaram um aumento na retenção do metal na raiz ($185,00 \text{ mg kg}^{-1}$), o que indica que embora tenham apresentados alterações fisiológicas a presença do biochar favoreceu o desenvolvimento da espécie.

Portanto os resultados apontam que o biochar tem potencial para melhorar o desempenho da espécie como fitoestabilizadora dos metais pois, quanto maior a retenção de metais na raiz maior é o potencial da espécie como fitoestabilizadora. A fitoestabilização é importante quando se trata de áreas contaminadas com metais porque reduz a entrada dos metais na cadeia alimentar e mantém os metais aprisionados por longos períodos quando a espécie é perene.

Em um estudo similar (SILVA, 2018) observou-se que o *Pinus Elliottii* apresenta um desempenho melhor como fitoestabilizador na presença de turfa, porém a concentração do metal era inferior ao controle. Outro estudo (MARCO, 2017) com *Eucalyptus grandis*, também com uma concentração menor, revelou que a presença de turfa favorece o desenvolvimento em solos com Cu. No presente estudo a ausência de resultados melhores com turfa pode estar relacionada à concentração de duas vezes o limite de intervenção agrícola.

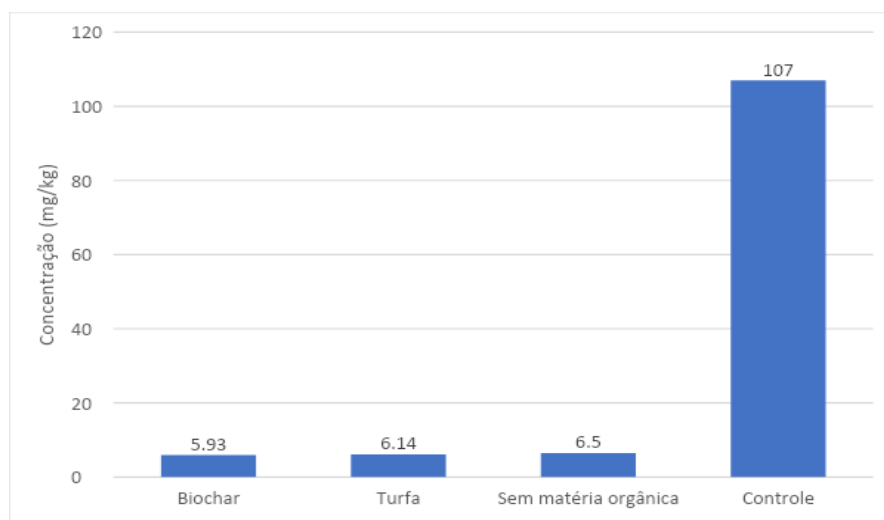
Os resultados apresentam de forma clara a variação nas concentrações de cobre provocada pela presença do biochar em relação aos demais grupos. O mesmo ocorreu com o zinco (Tabela 6 e Figura 11), a concentração do metal também se difere dos demais grupos, mas com valores inferiores, ou seja, os resultados indicam uma piora no desempenho da planta como fitoestabilizadora do Zn.

Tabela 6 - Concentração média de zinco no sistema radicular dos grupos amostrais.

Metal	Amostra de solo	Parte analisada	Concentração (mg kg ⁻¹)
Zn	biochar	raiz	5,93
Zn	turfa	raiz	6,14
Zn	-	raiz	6,50
Controle (sem Zn)	-	raiz	107,00

Fonte: autoria própria.

Figura 11 – Concentração média de zinco no sistema radicular dos grupos amostrais.



Fonte: autoria própria.

Nestas amostras a concentração de zinco no sistema radicular sofreu uma grande redução quando comparados os grupos com o metal e o grupo de controle (107,00 mg kg⁻¹). O mesmo ocorreu

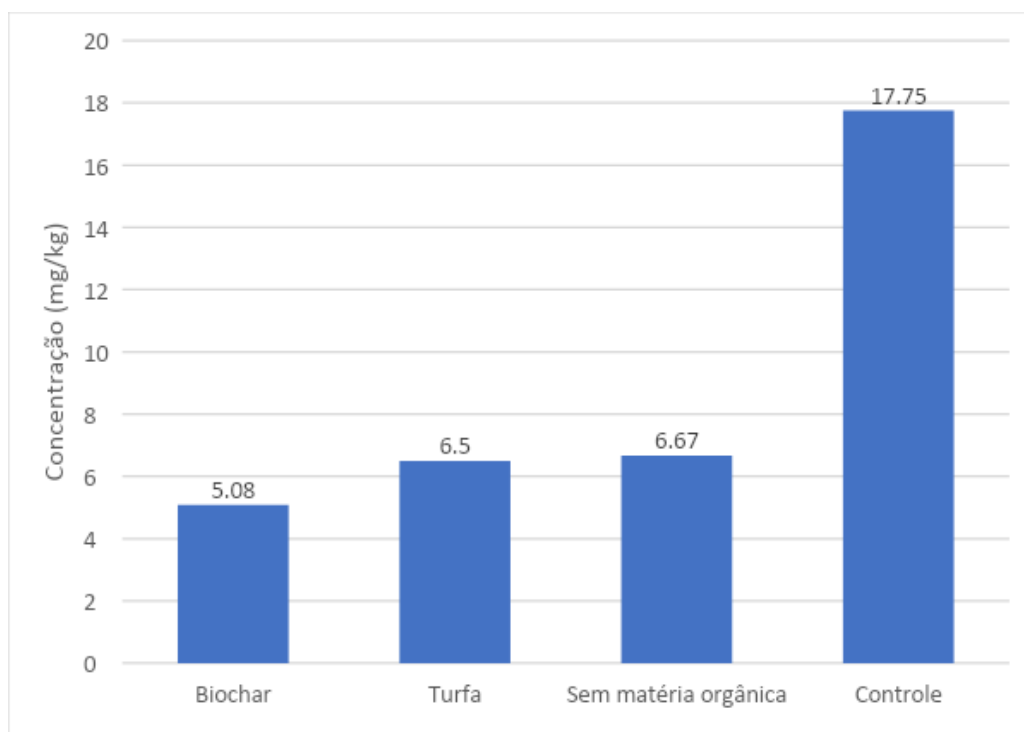
nas folhas como está organizado na Tabela 7 e na Figura 12, indicando que em todos os casos a fitotoxidez afetou a planta e reduziu a fitorremediação do metal.

Tabela 7 - Concentração média de zinco nas folhas dos grupos amostrais.

Metal	Amostra de solo	Parte analisada	Concentração (mg kg ⁻¹)
Zn	biochar	folha	5,08
Zn	turfa	folha	6,50
Zn	-	folha	6,67
Controle	-	folha	17,75

Fonte: autoria própria.

Figura 12 – Concentração média de zinco nas folhas dos grupos amostrais.



Fonte: autoria própria.

Devido a essa redução na presença de zinco nas folhas há indícios de que o biomonitoramento é possível, mas a espécie não apresenta características favoráveis para o biomonitoramento do zinco na concentração de duas vezes o limite de intervenção agrícola, mesmo na presença de matéria orgânica. No entanto, este estudo apresenta a limitação de analisar amostras com uma quantidade fixa de MO, se faz necessário verificar se as mudas apresentam resultados melhores com a adição amenizantes.

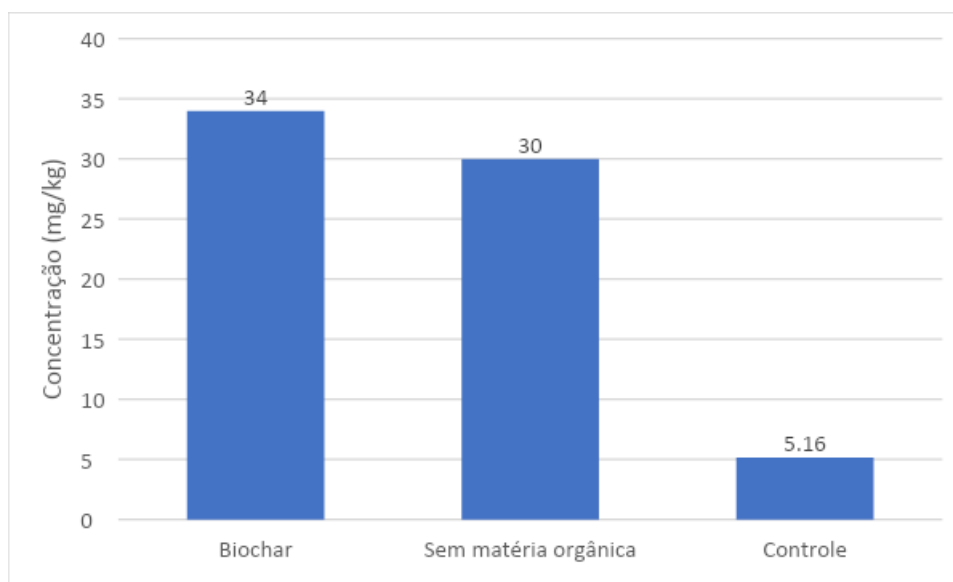
Por outro lado, quando analisados os resultados com cobre, há indícios de que a espécie pode ser utilizada no biomonitoramento do solo porque ocorreu o acúmulo do metal nas folhas quando comparadas as médias do grupo de controle com os outros grupos amostrais (Tabela 8 e Figura 13).

Tabela 8- Concentração média de cobre nas folhas dos grupos amostrais.

Metal	Amostra de solo	Parte analisada	Concentração (mg kg ⁻¹)
Cu	biochar	folha	34
Cu	-	folha	30
Controle	-	folha	5,16

Fonte: autoria própria.

Figura 13 – Concentração média de cobre nas folhas dos grupos amostrais.



Fonte: autoria própria.

Nos resultados laboratoriais das folhas não foi considerado o grupo amostral com adição de cobre e turfa porque as mudas perderam muitas folhas. Essa característica pode ser um fator limitante para a aplicação das plantas no biomonitoramento de áreas com elevados teores de cobre, o que não ocorre com outras espécies como por exemplo o *Pinus Elliottii* porque as mudas não perdem suas acículas nos níveis de contaminação do solo do presente estudo (Silva, 2016).

5.3 Índice de translocação

Para se fazer uma análise mais detalhada do potencial da planta como bioindicadora foi calculado o índice de translocação sendo este um indicador usado para analisar a capacidade da planta absorver os metais nas folhas. Os resultados estão organizados na Tabela 9.

Tabela 9 – Índices de translocação dos grupos amostrais.

Metal	Amenizante (enriquecimento de matéria orgânica)	Índice de translocação
Zn	-	0,51
Zn	biochar	0,46
Zn	turfa	0,51
Controle (Zn)	-	0,14
Cu	turfa	nd*
Cu	-	0,48
Cu	biochar	0,16
Controle (Cu)	-	0,05

nd* - Não determinado.

Fonte: autoria própria.

Comparando os resultados do grupo de controle com os demais há um aumento nos índices de translocação, pois de maneira geral o acúmulo no sistema radicular foi maior porque as mudas foram menos afetadas pelos metais analisados, que como discutido anteriormente afetam a capacidade do sistema radicular absorver os mesmos por alterações fisiológicas.

Nos resultados com cobre o índice de translocação com biochar, apontado como um bom bioindicador, é inferior ao grupo sem matéria orgânica porque na presença do biochar a planta apresenta um acúmulo muito maior no sistema radicular. Ou seja, a planta apresenta um comportamento menos fitoextratora, mas isso não impede o biomonitoramento com as folhas.

Nos resultados com zinco o índice de translocação se manteve estável quando comparadas as amostras com turfa e do grupo sem matéria orgânica, o que indica pouca influência da turfa. No entanto o índice de translocação foi menor nas amostras com biochar porque houve uma menor absorção.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho os resultados indicam que é viável a aplicação da espécie de *Eucalyptus urograndis* para o biomonitoramento de íons cobre. Porém, em elevados teores de contaminação as alterações fisiológicas alteram consideravelmente o desenvolvimento da planta, observado pela redução de folhas. Desta forma seria necessário um tempo muito maior de análise, visando permitir a adaptação da planta ao solo contaminado. Esse biomonitoramento é favorecido pela presença de biochar como agente amenizante. Além disso, o biochar melhora o desempenho da planta como fitoestabilizadora.

Com relação ao zinco é possível fazer o biomonitoramento do metal no solo pelas folhas, mas a planta não apresentou um bom desempenho para esse fim. Por isso, em estudos futuros poderiam ser adicionadas quantidades maiores de agentes amenizantes para verificar se a espécie apresenta um desempenho melhor no biomonitoramento do zinco. Quando considerada a remoção global de Zn do solo a fitorremediação foi favorecida quando foi adicionada matéria orgânica ao sistema.

É necessário o uso de plantas com retorno econômico para a aplicação de processos de biorremediação para que seja atrativo ao agricultor. Plantas com ciclo longo tendem a imobilizar o metal por um longo tempo na cadeia. A aplicação adequada da madeira produzida é fundamental, como na produção de móveis, onde o metal ficará imobilizado por um tempo maior. As folhas do eucalipto poderão ser avaliadas durante o processo como um índice bioindicador da remediação ambiental em solos contaminados por cobre. A legislação brasileira permite o reflorestamento com plantas exóticas, plantas não nativas da flora brasileira. As plantas do gênero *Eucalyptus* apresentam elevado potencial, principalmente devido a sua tolerância a climas temperados que permite a revegetação de áreas contaminadas. Neste contexto, a avaliação constante das plantas permite o monitoramento do impacto ambiental, sendo usada como bioindicadora da contaminação e remediação do solo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS E TÉCNICAS. NBR 10.007: Amostragem de resíduos sólidos. 2 ed. Brasília: ABNT, 2004.

ABRAF. Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. Anuário estatístico ABRAF 2013 ano base 2012 / ABRAF. Brasília: 2013. Disponível em: <<http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/handle/123456789/3910>>. Acesso em: out. de 2014.

BAGLIANO, R. V. Principais organismos utilizados como bioindicadores relatados com uso de avaliadores de danos ambientais. **Meio Ambiente e sustentabilidade**, v. 2, n. 1, p. 24-40, jun/dez 2012. ISSN: 2316-2856. Disponível em: <<https://www.uninter.com/revistameioambiente/index.php/meioAmbiente/article/view/113/50>>. Acesso em: 16 maio 2018.

BARBOSA, T. L. **Qualidade da madeira de clones de Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla cultivados em cinco regiões do estado de Minas Gerais para produção de celulose**. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **CONAMA nº420**. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Brasília, 2009.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. O uso de bioindicadores vegetais no controle da poluição atmosférica. [internet]. Disponível em: < <http://cetesb.sp.gov.br/solo/bioindicadores/>>. Acesso em: 16 maio. 2009.

COUTINHO, V. M. et al. Mapeamento das áreas plantadas com Eucalyptus spp. no estado do Paraná. **Biofix Scientific Journal**, março, 20 abr. 2017. p. 32-43. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/biofix/article/view/51222>>. Acesso em: 15 maio 2018.

FLORENCE, T. M.; MORRISON, G. M.; STAUBER, J. L. Determination of trace element speciation and the role of speciation in aquatic toxicity. **Science of the Total Environment**, v. 125, p. 1-13, 1992.

HALLER, H.; JONSSON, A. Growing food in polluted soils: A review of risks and opportunities associated with combined phytoremediation and food production (CPFP), **Chemosphere**, v. 254, p. 126826, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126826>>.

HATER, R. D.; NAIDU, R. “An assessment of environmental and solution parameter impact on trace-metal sorption by soils”. **Soil Science Society of American Journal**, v. 65, n.3, p. 597-612, 2001.

IBÁ – Indústria Brasileira de Árvores. **Anuário Estatístico IBÁ**. 2020. Brasília, 2020. 66 p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://ibge.gov.br/>. Acesso em: 28 de março de 2021.

KOVALCHUK, I. et al. Transgenic plants are sensitive bioindicators of nuclear pollution caused by the Chernobyl accident. **Nature biotechnology**, v. 16, p. 1054-1059, fevereiro 1998. ISSN 10.1038/3505. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/3505>>. Acesso em: 15 maio 2018.

MAKI, E.S. et. al. Utilização de bioindicadores em monitoramento de poluição. **Biota Amazônia**, v.3, p. 169-178, agosto 2013. Documento disponível online em: < <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v3n2p169-178> >.

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

MARCO, R; et al. Amenizante Orgânico e *Eucalyptus grandis* para Fitoestabilização de Solo Contaminado com Cobre. **Floresta e Ambiente, Frederico Westphalen**, v. 24, p. 2-9, 2017.

MARTINS, R.; BOAVENTURA, R. Briófitas aquáticas como bioindicadores da poluição de águas superficiais por metais pesados. In: XI SILUBESA - Simpósio Luso-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. [**Anais...**]. Natal, RN, Brasil, 2004.

MELO, G. W. B, et al. **Calagem, adubação e contaminação em solos adubados com videiras**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2016.

MENEGAIS, J. F, et al. Avaliação do potencial fitorremediador de cravina-chinesa cultivada em solo com excesso de cobre. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 12, n.4, p. 1353-1370, 2019.

PAVANELLI, A. **Avaliação da fitorremediação em solo impactado com diesel comercial**. 2004. 65 f. Relatório de conclusão do Estágio Supervisionado em Química. Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, 2004.

PEDROSO, Andrea N.V. Poluentes Atmosféricos & Plantas Bioindicadoras. Instituto de Botânica – IBt. Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Curso de Capacitação de Monitores e Educadores. S. Paulo, 2007.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M., et.al. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v.21, n. 2 mai/ago 2003. ISSN 1806-9681. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582003000200020> >. Acesso em: 17 maio 2018.

RAIJ, B. van; ANDRADE, J.C. de; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais. Campinas: Instituto Agronômico, 2001. 285p.

RAMOS, M. G. M.; GERALDO, L. P. Avaliação das espécies de plantas *avicennia schaueriana*, *laguncularia racemosa* e *rhizophora mangle* como bioindicadoras de poluição por metais pesados em

ambientes de mangues. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 12, n.4, p. 440-445, out./dez., 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522007000400011>>. Acesso em: 15 maio 2018.

RESENDE, R. D. O.; PINHO, F. E. C. Estudo da espécie *Curatella americana* L - (Lixeira) utilizada como bioindicador em região aurífera do distrito de Cangas-Poconé-MT. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 11, p. 48-63, 2011. ISSN: 1519-5228. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/500/50021611007/>>. Acesso em: 15 maio 2018.

SILVA, G. Uso de bioindicadores para estudo da contaminação do solo: a influência da matéria orgânica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 8., [Anais [...]. 2018, Ponta Grossa, PR. Disponível em: <<http://www.aprepro.org.br/conbrepro/2018/index.php?id=265>>. Acesso em: 20 dezembro 2018.

SILVA, T. **Fitorremediação em escala piloto: proposta para recuperação de solos contaminados com cobre e zinco**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2016.

TAVARES, S.R.L. **Fitorremediação em solo e água de áreas contaminadas por metais pesados provenientes da disposição de resíduos perigosos**. 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Civil). Instituto Alberto Luiz Coimbra de pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

VAN HULLEBUSCH, Eric D. et al. (Ed.). **Environmental Soil Remediation and Rehabilitation: Existing and Innovative Solutions**. Dordrecht: Springer Nature, 2020.

VERHEIJEN, F, et al. Biochar Application to Soils: **A Critical Scientific Review of Effects on Soil Properties, Processes and Functions**. EUR, v. 24099, p. 162, 2010.

WEI, Z et al. A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, Article 123658, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123658>>.

YILMAZ, S.; ZENGİN, M. Monitoring environmental pollution in Ezurun by chemical analysis of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles. **Environment International**, (Barking, Essex: 1987), v. 29, n. 8, p. 1041-1047, February, 2004. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00097-7](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00097-7). Acesso em: 15 maio 2018.