

# MICORRIZAS ARBUSCULARES NO CRESCIMENTO PÓS-TRANSPLANTIO DE MUDAS DE ÁRVORES EM SOLO COM EXCESSO DE METAIS PESADOS<sup>(1)</sup>

J. O. SIQUEIRA<sup>(2)</sup>, E. POUYÚ<sup>(3)</sup> & F. M. S. MOREIRA<sup>(2)</sup>

## RESUMO

Os efeitos adversos dos metais pesados para as diversas formas de vida dificultam a recuperação de solos contaminados por estes elementos. Neste trabalho, avaliaram-se os efeitos da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e absorção de metais de mudas de cinco espécies arbóreas, transplantadas para misturas que continham diferentes proporções de um solo contaminado (PSC). Mudas de *Senna multijuga* (L.C. Rich.) Irwin et Barneby (cássia verrugosa), *Luehea grandiflora* Mart. et Zucc. (açoita-cavalo), *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (tamboril), *Albizia lebeck* (L.) Benth. (albizia) e *Senna macranthera* (Collard.) Irwin et Barneby (fedegoso), inoculadas e sem inoculação, foram transplantadas para as misturas de solos e desenvolvidas por 180 dias, no período de abril a novembro de 1996, em vasos, em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, Lavras (MG). Verificou-se que a elevação na PSC na mistura reduziu o desenvolvimento das mudas e a colonização micorrízica (CM), sendo isto causado pela elevada absorção de metais pelas plantas, especialmente, de Cd e Zn. A inoculação favoreceu o crescimento das mudas após transplântio, sendo esse efeito mais evidente nas misturas de solo com baixa PSC. A CM foi reduzida de 70 a 90% no solo não contaminado para valores próximos de zero na mistura com alta PSC. Os níveis críticos de toxidez (redução de 10% na matéria seca das plantas inoculadas) dos metais no solo foram, em mg dm<sup>-3</sup>, de 83, 57, 153, 256 e 16, para o Zn, e de 1,3; 0,9; 0,8; 4,0 e 1,6, para Cd, para açoita-cavalo, cássia verrugosa, fedegoso, tamboril e albizia, respectivamente. Observando esses níveis críticos, as plantas não inoculadas apresentaram produção de matéria seca relativa, média para todas as espécies, de apenas 39%, evidenciando os benefícios da inoculação para o crescimento pós-transplântio das mudas. Esses benefícios relacionaram-se com menores teores de metais na parte aérea. Mesmo desconhecendo os mecanismos envolvidos nestas respostas, os resultados deste trabalho evidenciaram a importância das micorrizas arbusculares para o crescimento de mudas de árvores e para a recuperação de áreas tropicais contaminadas com metais pesados.

**Termos de indexação:** poluição do solo, recuperação do solo, simbioses radiculares, fungos Glomales, metais pesados.

<sup>(1)</sup> Trabalho financiado pelo convênio CMM/FAEPE e FAPEMIG. Recebido para publicação em junho de 1998 e aprovado em maio de 1999.

<sup>(2)</sup> Professor Titular e Adjunto do Departamento de Ciência do Solo, Universidade Federal de Lavras - UFLA. Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras (MG). Bolsistas do CNPq.

<sup>(3)</sup> Pesquisador do Instituto de Ecologia e Sistemática do Ministério de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente de Cuba. Doutorando na UFLA. Bolsista da FAPEMIG.

**SUMMARY:** *ARBUSCULAR MYCORRHIZAE ON POST-TRANSPLANT GROWTH OF WOODY OUTPLANTS IN SOIL WITH EXCESS OF HEAVY METALS*

The adverse effects of the heavy metals on all living forms make rehabilitation of heavy metal-contaminated soils very difficult. In this paper, the effects of seedling inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on post-transplant growth and metal uptake of five woody species: *Senna multijuga* (L.C. Rich.) Irwin et Barneby (*cássia verrugosa*), *Luehea grandiflora* Mart. et Zucc. (*açoita-cavalo*), *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (*tamboril*), *Albizia lebeck* (L.) Benth. (*albizia*) and *Senna macranthera* (Collard.) Irwin et Barneby (*fedegoso*) in soil mixes containing increasing proportion of a heavy metal-contaminated soil (PCS) were studied. The experiment was carried out under greenhouse conditions at the Department of Soil Science of the Federal University of Lavras, Lavras (MG) during 180 days, from April to November of 1996. It was found that increasing the PCS in the soil mix reduced plant growth and mycorrhizal colonization. Such effects resulted from increased plant metal uptake, mainly Cd and Zn. Inoculation with AMF at the seedling stage enhanced post-transplant growth in the non-contaminated soil and in the soil mixes containing low PCS. Mycorrhizal colonization was reduced from 70 to 90% in the non-contaminated soil to near zero at high PCS. The critical toxicity levels (dry matter reduction by 10%) in the soil were in  $\text{mg dm}^{-3}$ : 83, 57, 153, 256 and 16 for Zn and 1.3; 0.9; 0.8; 4.0 and 1.6 for Cd for "*açoita-cavalo*", "*cássia verrugosa*", "*fedegoso*", "*tamboril*" and "*albizia*", respectively. At this level of soil contamination, non-mycorrhizal plants yielded only 39% (mean for all species) of the maximum yield, therefore indicating the mycorrhizal benefits for outplant growth. Such benefits were related to lower contents of metals in the shoots. Although the mechanisms involved in these responses are not known, AMF was found to be important for the initial tree growth and for rehabilitation of heavy metal-contaminated soils in the tropics.

*Index terms:* soil pollution, land rehabilitation, root symbiosis, mycorrhiza, Glomalean fungi, heavy metals.

## INTRODUÇÃO

A contaminação do solo com metais pesados, devida ao uso de produtos manufaturados, mineração e rejeitos industriais, ocasiona sérias conseqüências ecológicas e por isto tem sido motivo de preocupação. Acredita-se que a incorporação e a mobilização de diversos metais, tais como: Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn no solo, resultantes de ações antrópicas, excedam, em mais de 10 vezes, os processos naturais (Singh & Steinnes, 1994), exercendo efeitos deletérios em diversas formas de vida, causando freqüentemente, de modo irreversível, poluição e contaminação dos ecossistemas (Ansorena et al., 1995; Leyval et al., 1997).

Ainda não é possível a plena recuperação de locais degradados quimicamente pela deposição de metais pesados. O uso, porém, de materiais adsorventes e a imobilização biológica pelo uso de plantas e microrganismos são bastante promissores. Esses organismos absorvem metais essenciais, como Fe, Mn, Zn, Cu, Mo e certos metais pesados, como Cd, Cr, Pb, Ni, Ag e Se, cujas funções biológicas são desconhecidas (Barceló & Poschenrieder, 1992), acumulando-os nos tecidos em concentrações

elevadas. A tolerância de plantas e microrganismos aos metais tem sido estudada do ponto de vista de remoção do excesso do metal do solo ou diminuição da disponibilidade destes nos sistemas biológicos, sendo considerável o interesse biotecnológico (Salt et al., 1995; Smith & Read, 1997). Atenção especial tem sido dada às micorrizas como atenuadoras da fitotoxidez causada pelos metais (Leyval et al., 1997). Plantas micorrizadas podem apresentar maior tolerância a diversos metais e, de modo compensatório, conferir ao fungo simbiote vantagens na sobrevivência em local contaminado. Segundo Wilkinson & Dickinson (1995), a capacidade de as espécies arbóreas de clima temperado resistirem aos estresses da contaminação é devida à diminuição da toxidez do metal resultante de mecanismos ainda desconhecidos, nos quais se podem incluir as micorrizas. Este aspecto, de grande importância ecológica e tecnológica, ainda não foi estudado em espécies arbóreas tropicais.

O objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento de mudas de *cássia verrugosa* (*Senna multijuga* (L.C. Rich.) Irwin et Barneby), *açoita-cavalo* (*Luehea grandiflora* Mart. et Zucc.), *tamboril* (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong), *albizia* (*Albizia*

*lebbeck* (L.) Benth.) e fedegoso (*Senna macranthera* (Collard.) Irwin et Barneby), inoculadas ou não com fungos micorrízicos arbusculares na sua formação e transplantadas para misturas de solo com diferentes proporções de um solo contaminado com diversos metais pesados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparação das mudas

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras (MG), no período de abril a novembro de 1996.

As sementes das espécies *Senna multijuga* (L.C. Rich.) Irwin et Barneby (cássia verrugosa), *Luehea grandiflora* Mart. et Zucc (açoita-cavalo), *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (tamboril), *Albizia lebbeck* (L.) Benth. (albizia) e *Senna macranthera* (Collard.) Irwin et Barneby (fedegoso) foram selecionadas e desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio 1%, por cinco minutos, tendo sido as de tamboril e albizia submetidas à quebra de dormência (Davide et al., 1995). Para germinação, as sementes foram colocadas em bandejas com vermiculita autoclavada, cobertas com plástico transparente e irrigadas com água deionizada. As plântulas foram padronizadas e repicadas para bandejas de polietileno com capacidade para 96 tubetes (1 planta/tubete) que continham 50 mL de substrato., constituído de 50% de Plantimax (Eucatex S/A), 20% de húmus de minhoca, obtido a partir de esterco de gado, 20% de solo, 10% de palha de arroz carbonizada, mistura esta suplementada com superfosfato simples (1,5 kg m<sup>-3</sup>). O substrato foi fumigado em caixa de

alvenaria vedada, durante 48 h, aplicando-se Bromex (Brometo de metila 98% + Cloropicrina 2%) na dosagem de 393 cm<sup>3</sup> m<sup>-3</sup> de solo, deixando-se mais 48 h livre ao ar para a exalação do excesso de gases, quando se retiraram amostras para análises químicas (Quadro 1).

Para promover a micorrização das mudas, realizou-se a infestação de parte do substrato com inóculo micorrízico composto de uma mistura de *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Acaulospora scrobiculata* Trappe, apresentando *G. etunicatum* como 50% do total de esporos. O inóculo foi obtido de vaso de cultivo com *Brachiaria decumbens* Stapf do Departamento de Ciência do Solo (UFLA), sendo este misturado ao substrato com vistas em atingir uma densidade média final de quatro esporos mL<sup>-1</sup> de substrato, além de outras formas de propágulos como hifas e raízes colonizadas.

Para equilibrar a microbiota entre os tratamentos, adicionou-se, nos tratamentos não inoculados depois da repicagem das plântulas, 1 mL de inóculo, peneirado e filtrado, por tubete. A albizia e o tamboril foram inoculados também com estirpes de rizóbio selecionadas (Br 5610 e Br 4406), em turfa, fornecidas pela Embrapa Agrobiologia, Itaguaí (RJ). A partir de 30 dias da repicagem, realizou-se adubação de cobertura com solução, a cada três dias, até o final da formação das mudas, aplicando-se, por planta, 245 µM de N na forma de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 55 µM de K como KCl, sendo aplicado apenas K nas espécies nodulíferas albizia e tamboril. As plantas foram desenvolvidas por aproximadamente quatro meses, quando atingiram o desenvolvimento adequado para o transplante. Plantas sem inoculação não apresentaram sinais de colonização, enquanto as desenvolvidas em substrato infestado revelaram colonização micorrízica elevada, superior a 80% em todas as espécies.

**Quadro 1. Características químicas do substrato de formação das mudas e dos materiais de solo**

Característica	Substrato de formação de mudas	Solo contaminado (CMM)	Solo diluente (LE)
pH em água <sup>(1)</sup>	5,5	6,1	6,0
P, mg dm <sup>-3</sup> <sup>(2)</sup>	101,0	32,0	1,0
K, mg dm <sup>-3</sup> <sup>(3)</sup>	107,0	75,0	62,0
S, mg dm <sup>-3</sup> <sup>(4)</sup>	123,3	32,0	32,0
Ca, mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> <sup>(5)</sup>	40,9	26,0	22,0
Mg, mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> <sup>(5)</sup>	32,6	5,0	8,0
Al, mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> <sup>(5)</sup>	10,0	0,0	1,0
H + Al, mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> <sup>(6)</sup>	33,3	21,0	26,0
B, mg dm <sup>-3</sup> <sup>(7)</sup>	0,5	0,3	0,2
Matéria orgânica, g kg <sup>-1</sup> <sup>(8)</sup>	54,0	20,0	34,0
V, %	-	63,0	55,0

<sup>(1)</sup>Água (1:2,5)/potenciometria. <sup>(2)</sup>Mehlich-1/colorimetria (Vettori, 1969). <sup>(3)</sup>Mehlich-1/fotometria de chama (Vettori, 1969). <sup>(4)</sup>Turbidimetria (Blanchar et al., 1965). <sup>(5)</sup>KCl mol L<sup>-1</sup>/titulometria. <sup>(6)</sup>CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> (1:2,5) + SMP/potenciometria. <sup>(7)</sup>Colorimétrico da curcúmina. <sup>(8)</sup>Oxidação com dicromato de potássio.

## O experimento

Mudas de cinco espécies arbóreas, com e sem micorrizas, padronizadas quanto ao vigor e desenvolvimento, foram transplantadas para misturas de solo que continham diferentes proporções de solo contaminado (PSC) com metais pesados, a saber: 0, 10, 20, 40 e 80% por volume na mistura com solo não contaminado (Latosolo Vermelho-Escuro). Os tratamentos foram testados separadamente em cada espécie vegetal em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 5 x 2 com cinco repetições. Como diluente do solo contaminado, empregou-se material de solo coletado na camada de 0-20 cm de profundidade de um perfil de LE, em área de cerrado não cultivada. Utilizou-se solo contaminado por metais oriundo de uma área de rejeito industrial da Companhia Mineira de Metais (CMM), no município de Três Marias (MG). Os materiais de solo foram secos ao ar e peneirados em malha de 4 mm.

Visando atingir características próximas do solo contaminado, realizou-se, no solo LE, correção de acidez com calcário calcítico, para elevar o índice de saturação de bases para 60% (Raij, 1991). Após a calagem e incubação, retiraram-se amostras para análises químicas (Quadro 1), realizando, em seguida, as misturas dos solos nas proporções desejadas. Depois de homogeneizadas, as misturas foram fumigadas como já mencionado para o substrato das mudas. Retiraram-se amostras de cada mistura para análises químicas dos metais (Quadro 2) para onde foram transplantadas as mudas com e sem inoculação com fungos micorrízicos.

O experimento foi desenvolvido por 180 dias, em casa de vegetação, sendo o solo dos vasos mantido com 60-70% do volume total de poros (Danielson & Sutherland, 1986) preenchidos com água. Ao final deste período, avaliaram-se a colonização micorrízica, a área foliar, a matéria seca da parte

aérea e raízes, assim como o teor de metais pesados na matéria seca da parte aérea e raízes das plantas. Parte aérea e raiz foram separadas, lavadas com água destilada e secas em estufa a 60°C. A matéria seca foi moída e submetida à digestão nitroperclórica (Zarosky & Burau, 1977), e os extratos foram empregados para determinação dos teores de Cu, Mn, Zn, Cd e Pb. Os metais foram determinados por espectrometria atômica de emissão com plasma, induzido em argônio (ICP/AES) nos laboratórios da CMM em Três Marias, e os demais nutrientes foram analisados conforme métodos de rotina empregados na UFLA. Antes da secagem das raízes, coletou-se 1 g de raízes finas, armazenadas em FAA (formalina-álcool-ácido acético) e, posteriormente, submetidas à clarificação e coloração com azul de tripano (Phillips & Hayman, 1970). Quantificou-se a colonização micorrízica, pelo método de Giovannetti & Mosse (1980), sendo os resultados expressos em percentagem de segmentos colonizados. Para avaliar a área foliar, empregou-se aparelho medidor de área modelo LI-3000A (LI-COR, Lincoln, USA). Nas espécies nodulíferas, avaliaram-se o número total e o peso de nódulos por planta.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância e testes de médias, utilizando-se o programa estatístico SANEST (Zonta, et al., 1984). Os dados de colonização micorrízica foram transformados por arcsen  $(x/100)^{1/2}$ . As regressões foram ajustadas por meio do programa TableCurve 3.01 (Jandel Corporation), e o valor de F foi corrigido mediante o programa FCalc32 versão 1.1.

Para determinar o nível crítico de toxidez (NCT) de Zn e Cd no solo, que reduz em 10% a produção relativa de matéria seca, e o nível de contaminação, que reduz a matéria seca em 50% ( $N_{50}$ ), utilizaram-se as equações de regressão para a produção de matéria seca da parte aérea, considerando os teores de metais determinados do solo e os teores destes na matéria seca da parte aérea das plantas.

**Quadro 2. Teores de Cd, Zn, Cu e Pb nas misturas com diferentes proporções de solo contaminado (PSC)**

Composição da mistura <sup>(1)</sup>	PSC	Metal extraído com Mehlich-1			
		Zn	Cd	Pb	Cu
	% v/v	mg dm <sup>-3</sup> de solo			
Solo LE	0	3	< 1	< 1	3
10% CMM + 90% LE	10	2.376	21	79	305
20% CMM + 80% LE	20	6.205	40	99	669
40% CMM + 60% LE	40	11.454	85	184	1.073
80% CMM + 20% LE	80	13.458	166	254	1.418
Solo contaminado	—	17.937	202	359	1.843

<sup>(1)</sup> LE: Latossolo Vermelho-Escuro, solo diluente e CMM solo contaminado empregado na preparação das diferentes PSC.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

## Crescimento das plantas e colonização micorrízica

Analisando as mudas transplantadas, verificou-se que a elevação da proporção de solo contaminado

(PSC) na mistura com o LE acarretou aumentos nos teores de Cd, Cu, Pb e Zn no solo (Quadro 2), exercendo efeito negativo no crescimento de todas as espécies vegetais (Quadro 3). Esses efeitos foram observados em todos parâmetros de crescimento e diferenciados para as espécies estudadas.

**Quadro 3. Médias, análises de variância (ANOVA) e regressões para área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA) e raízes (MSR) das diferentes espécies com (+) e sem (-) inoculação com fungo micorrízico (M) após 180 dias de crescimento em misturas de solo com diferentes proporções de solo contaminado (PSC)**

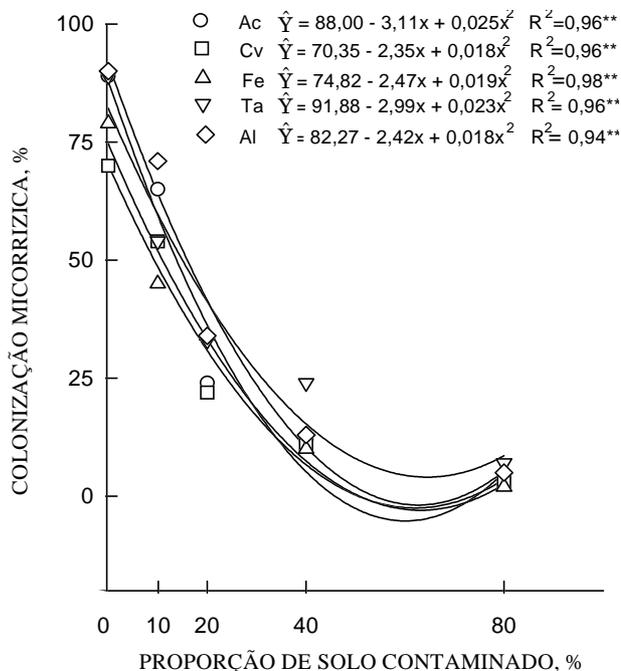
Parâmetro	M	Proporção de solo contaminado (%)					Anova	Equação de regressão	R <sup>2</sup>
		0	10	20	40	80			
<b>Açoita-cavalo</b>									
AF (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	+	361,00	187,00	52,00	16,00	19,00	PSC**	$\hat{y} = 400,93 + 6,32x - 99,8\sqrt{x}$	0,97**
	-	208,00	97,00	23,00	23,00	19,00	M** PSCxM**	$\hat{y} = 140,45 - 30,02\text{Ln}x$	0,94**
MSPA (g)	+	5,39	2,43	1,66	0,64	0,54	PSC**	$\hat{y} = 5,41 + 0,070x - 1,172\sqrt{x}$	0,99**
	-	3,43	1,50	0,96	0,66	0,78	M** PSCxM**	$\hat{y} = 3,44 + 0,051x - 0,765\sqrt{x}$	0,99**
MRS (g)	+	4,86	1,33	0,86	0,41	0,54	PSC**	$\hat{y} = 4,52 + 0,085x - 1,203\sqrt{x}$	0,99**
	-	4,25	1,55	0,77	0,60	0,53	M <sup>ns</sup> PSCxM <sup>ns</sup>	-	-
<b>Cássia verrugosa</b>									
AF (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	+	276,00	86,00	43,00	16,00	4,00	PSC**	$\hat{y} = 273,85 + 4,775x - 72,493\sqrt{x}$	0,99**
	-	70,00	42,00	24,00	17,00	4,00	M** PSCxM**	$\hat{y} = 70,540 + 0,4601x - 11,557\sqrt{x}$	0,99**
MSPA (g)	+	4,53	1,65	0,71	0,56	0,27	PSC**	$\hat{y} = 4,516 + 0,0755x - 1,142\sqrt{x}$	0,96**
	-	1,74	0,92	0,70	0,38	0,14	M** PSCxM**	$\hat{y} = 1,742 + 0,0129x - 0,294\sqrt{x}$	0,99**
MSR (g)	+	3,25	1,24	0,73	0,99	0,73	PSC**	$\hat{y} = 1,967 + 0,3179\text{Ln}x$	0,97**
	-	2,27	1,08	0,87	0,76	0,75	M <sup>ns</sup> PSCxM <sup>ns</sup>	-	-
<b>Fedegoso</b>									
AF (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	+	882,00	1029,00	958,00	866,00	37,00	PSC**	$\hat{y} = 966,25 - 0,0018x^3$	0,98**
	-	903,00	283,00	779,00	226,00	23,00	M** PSCxM**	$\hat{y} = 485,48 + 0,075x^2 + 41,68$	0,72**
MSPA (g)	+	4,15	2,37	1,57	1,01	0,19	PSC**	$\hat{y} = 3,2 - 0,017x - 0,391\text{Ln}x$	0,99**
	-	1,41	1,51	0,69	0,52	0,21	M** PSCxM**	$\hat{y} = 1,51 - 0,08x^{0,63}$	0,99**
MSR (g)	+	3,74	2,28	1,64	0,84	0,41	PSC**	$\hat{y} = 3,92 + 0,00019x^2 - 0,53\sqrt{x}$	0,99**
	-	1,08	1,19	0,79	0,59	0,39	M** PSCxM**	$\hat{y} = 1,38 - 0,054(\text{Ln}x)^2$	0,94**
<b>Tamboril</b>									
AF (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	+	69,00	48,00	33,00	18,00	5,00	PSC**	$\hat{y} = 55,82 + 0,026x - 6,2018\sqrt{x}$	0,99**
	-	47,00	26,00	26,00	14,00	1,00	M** PSCxM <sup>ns</sup>	-	-
MSPA (g)	+	4,05	2,75	1,60	1,00	0,51	PSC**	$\hat{y} = 4,3 + 0,03x - 0,7\sqrt{x}$	0,90**
	-	2,24	1,82	1,23	1,27	0,51	M** PSCxM**	$\hat{y} = 2,3 - 0,19\sqrt{x}$	0,84**
MSR (g)	+	14,66	7,94	2,63	1,87	0,39	PSC**	$\hat{y} = 0,54 + 14,35e^{(-x/13,08)}$	0,95**
	-	3,66	5,05	2,11	1,93	0,64	M** PSCxM**	$\hat{y} = 5,3 - 0,25(\text{Ln}x)^2$	0,99**
<b>Albizia</b>									
AF (cm <sup>2</sup> planta <sup>-1</sup> )	+	184,00	95,00	87,00	87,00	5,00	PSC**	$\hat{y} = 176,75 + 0,2267x - 20,072\sqrt{x}$	0,91**
	-	33,00	26,00	54,00	57,00	1,00	M** PSCxM**	$\hat{y} = -7,6 - 0,02x^2 + 7,37(\text{Ln}x)^2$	0,99**
MSPA (g)	+	4,82	2,54	2,86	2,12	0,26	PSC**	$\hat{y} = 3,86 - 0,00029x^2 - 0,3814\text{Ln}x$	0,93**
	-	0,85	0,78	1,02	1,26	0,28	M** PSCxM**	Sem ajuste	-
MSR (g)	+	18,68	11,38	8,41	5,02	0,99	PSC**	$\hat{y} = 17,38 - 0,489x + 0,00346x^2$	0,98**
	-	1,52	1,43	1,54	2,04	1,20	M** PSCxM**	Sem ajuste	-

\*\* significativo pelo teste de F a 1%; <sup>ns</sup> não-significativo.

A área foliar total por planta foi reduzida pela contaminação e pela inoculação em todas as espécies, não sendo encontrada interação dos dois fatores apenas no tamboril (Quadro 3). Os efeitos da inoculação foram bem evidentes na ausência de contaminação ou em pequena proporção de solo contaminado. A produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) também foi muito reduzida com o aumento da contaminação. A inoculação das mudas exerceu efeito positivo no crescimento pós-transplante das cinco espécies, porém a magnitude desse efeito variou entre as espécies, conforme o nível de contaminação. As espécies inoculadas produziram mais MSPA do que as não inoculadas, apenas quando transplantadas para misturas de solo que continham pequenas proporções de solo contaminado. As PSC até onde ocorreu efeito da inoculação foram de 34%, para cássia verrugosa; 38%, para tamboril; 54%, para açoita-cavalo; 71%, para o fedegoso, e 75%, para albizia. Em PSC acima destes valores, a produção de MSPA foi muito pequena. As respostas verificadas para massa seca de raízes (MSR) foram semelhantes àquelas obtidas para MSPA para a contaminação da mistura (Quadro 3). A albizia não inoculada revelou pequena produção de matéria seca tanto da parte aérea quanto de raízes. Os efeitos da PSC também foram muitos pequenos quando comparados aos observados nas plantas inoculadas e não foram encontrados ajustes polinomiais que explicassem significativamente ( $P \leq 0,05$ ) as respostas obtidas. No açoita-cavalo e cássia verrugosa, não houve efeito para inoculação.

Os resultados obtidos para parâmetros de crescimento das plantas evidenciam a sensibilidade destas à elevação na concentração de metais pesados no solo, como já verificado para várias espécies arbóreas nativas não micorrizadas (Marques et al., 1999), bem como o efeito benéfico das micorrizas arbusculares, respectivamente, em condições de baixa contaminação.

Após o transplante, a colonização micorrízica (CM) sofreu drástica redução com o aumento da contaminação (Figura 1). Verificou-se decréscimo nos valores de 70 a 90% de segmentos colonizados no solo não contaminado para valores próximos de 0 nas misturas com 80% de solo contaminado, sendo esta resposta semelhante nas espécies estudadas. Tanto a colonização quanto a matéria seca variaram inversamente aos teores de metais pesados extraídos do solo (Quadro 2). Com base nos valores médios de CM para todas as espécies, verificou-se que a inibição de 50% desse parâmetro ocorreu com 18% de solo contaminado na mistura. Empregando regressões para PSC na mistura e nos teores de metais extraídos com Mehlich-1, determinou-se que, neste nível de contaminação, o solo apresentava ( $\text{mg dm}^{-3}$ ): 5.755 de Zn, 579 de Cu, 34 de Cd e 100 de Pb. Portanto, assim como os parâmetros de crescimento, a CM é sensível ao excesso de metais no solo.



**Figura 1. Colonização micorrízica do açoita-cavalo (Ac); cássia verrugosa (Cv); fedegoso (Fe); tamboril (Ta) e albizia (Al) após o transplante para mistura com diferentes proporções de solo contaminado.**

Os resultados aqui relatados corroboram os de estudos com outras espécies vegetais (Gildon & Tinker, 1983; Roldan & Albaladejo, 1993). Os efeitos da elevação na PSC sobre a colonização podem justificar a grande diminuição no efeito da micorriza no desenvolvimento das plantas em misturas de solo com elevada PSC (Quadro 3).

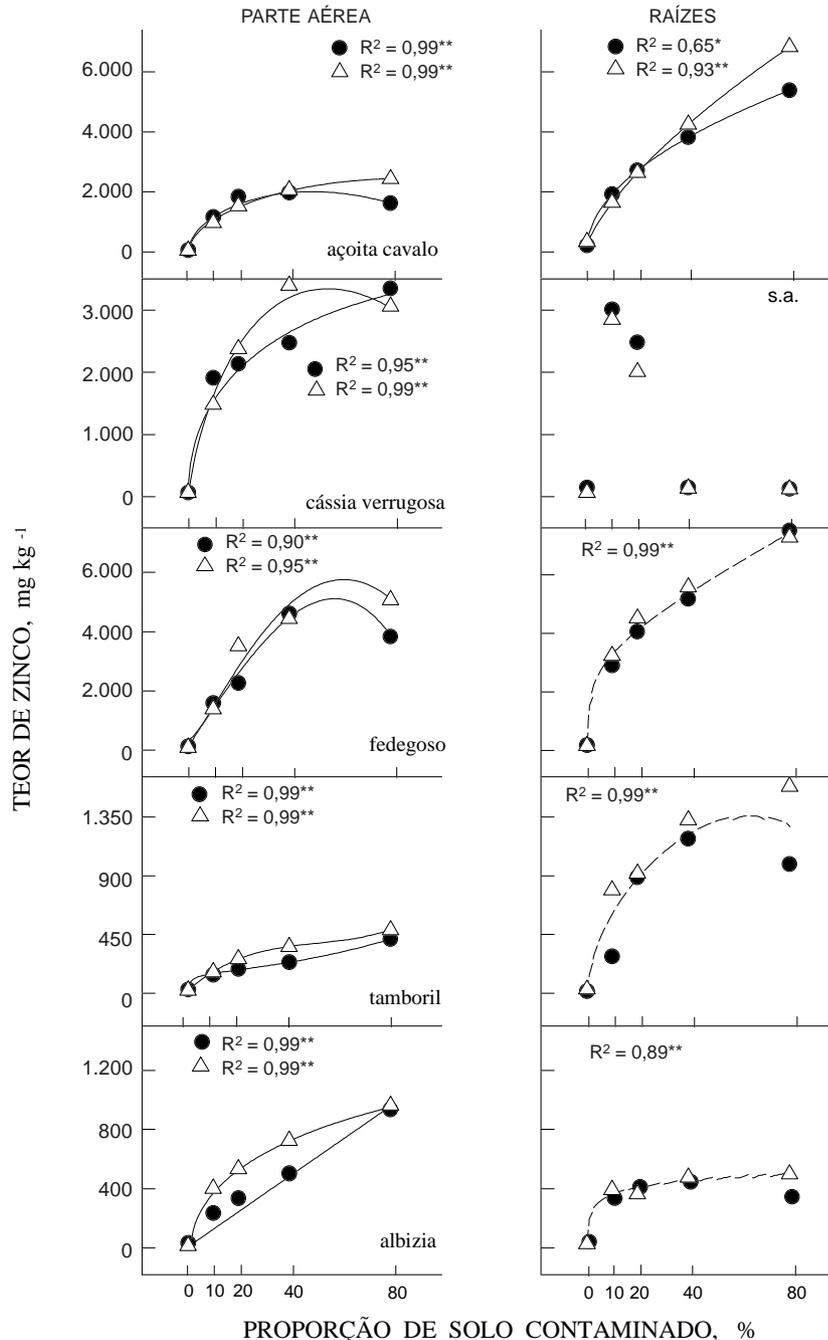
#### Teores de metais e nutrientes na matéria seca das plantas

A elevação na PSC resultou em aumentos acentuados nos teores dos metais pesados na matéria seca da parte aérea e das raízes das plantas. Os maiores teores de Zn foram encontrados no fedegoso e os menores no tamboril.

A inoculação reduziu os teores desse elemento na parte aérea de todas as espécies, variando tal efeito com a espécie e com a PSC na mistura (Figura 2). Verificaram-se efeitos mais acentuados da inoculação na cássia verrugosa e albizia. Nas raízes, os efeitos dos tratamentos nos teores de Zn foram bastante diferentes dos observados para parte aérea (Figura 2). A inoculação só teve efeito no açoita-cavalo, por ter reduzido o teor de zinco em PSC elevadas. No fedegoso, aumentos nos teores de zinco nas raízes apresentaram aumentos correspondentes na parte aérea. Na albizia, teores na parte aérea aumentaram independentemente de aumentos nas raízes. Apesar das diferenças nos

teores desse elemento na planta, para as duas espécies, não ocorreu retenção nas raízes, indicando que o Zn absorvido foi translocado para a parte aérea. No tamboril e no açoita-cavalo, verificou-se maior concentração de Zn nas raízes, portanto pequena translocação para a parte aérea. Na PSC de 40%, plantas de açoita-cavalo apresentaram em torno de  $4.000 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn nas raízes e metade desse valor

na parte aérea, havendo pequeno efeito da inoculação. Apesar da eficiente translocação do Zn, o tamboril apresentou baixa absorção desse elemento, quando comparado com o fedegoso. Isto reflete características intrínsecas dessas espécies, podendo envolver mecanismos específicos como a exclusão do elemento pelas raízes (Baker, 1987) ou outros mecanismos desconhecidos.



**Figura 2.** Teores de zinco no açoita-cavalo, cássia verrugosa, fedegoso, tamboril e albizia após o transplântio para mistura com diferentes proporções de solo contaminado: ●—●: plantas inoculadas; △—△: plantas sem inoculação; -----: sem interação; s.a.: sem ajuste.

Os teores de Zn encontrados foram muito mais elevados comparados aos níveis críticos de toxidez para as plantas considerados por Marschner (1997) de 100 a 300 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca. Apesar de as micorrizas terem efeito nos teores de Zn nas raízes, apenas no açoita-cavalo, plantas inoculadas apresentaram menores teores desse elemento na parte aérea e, conforme discutido por vários autores (Cumming & Weinstein, 1990; Wilkinson & Dickinson, 1995; Diaz et al., 1996; Leyval et al., 1997; Smith & Read, 1997), os fungos micorrízicos podem reduzir a translocação do Zn das raízes para a parte aérea.

No entanto, plantas micorrizadas podem apresentar maiores teores de Zn em solos com baixos teores desse elemento e menores em solos com teores excessivos de zinco (Faber et al., 1990; Heggio et al., 1990).

Os teores de Cd na planta foram inferiores aos de Zn, e as respostas à elevação da PSC não foram muito diferentes daquelas observadas para Zn (Figura 3). Os teores de Cd foram pouco afetados pela inoculação, tanto na raiz quanto na parte aérea. O açoita-cavalo, fedegoso e tamboril apresentaram teores mais baixos de Cd na parte aérea do que nas raízes, indicando baixa mobilidade desse elemento

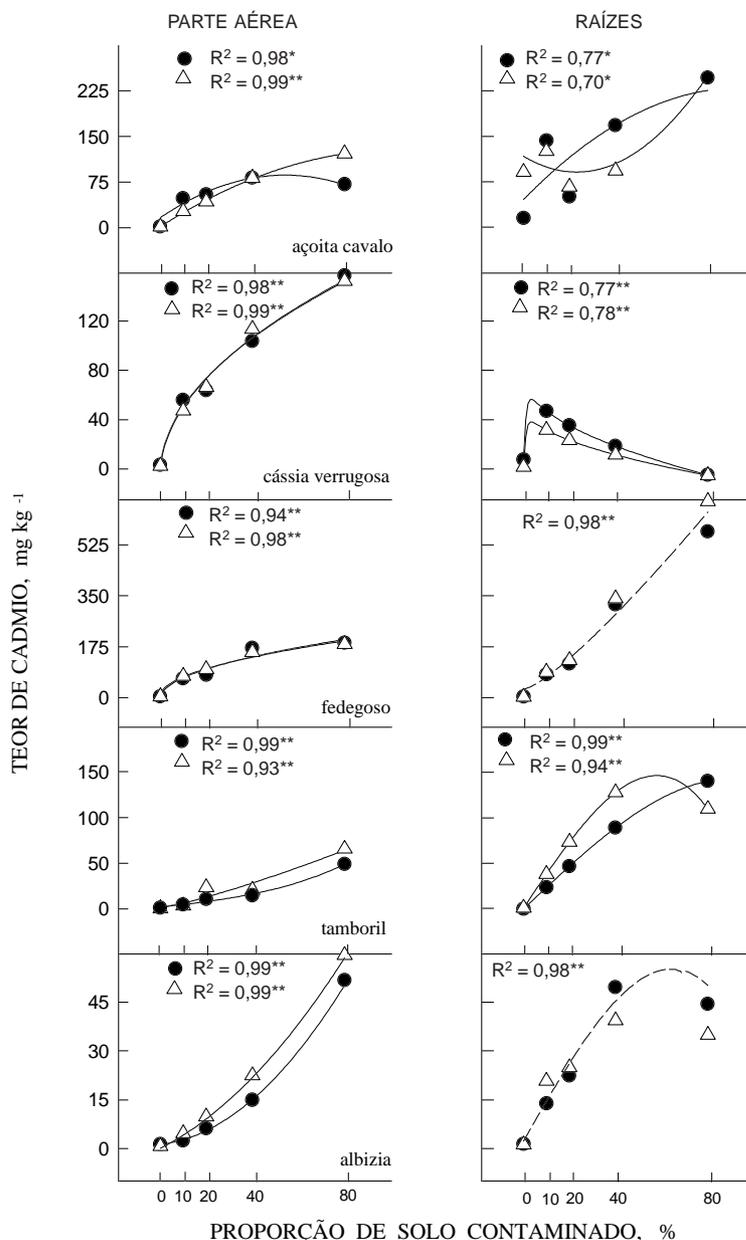


Figura 3. Teores de Cádmiio no açoita-cavalo, cássia verrugosa, fedegoso, tamboril, albizia após o transplântio para mistura com diferentes proporções de solo contaminado: —●—: plantas inoculadas; —△—; plantas sem inoculação; ----: sem interação.

(Alloway, 1990) nestas espécies, fato não observado na albizia e na cássia verrugosa que parecem não ser capazes de reter o Cd nas raízes. A cássia verrugosa apresentou teor mais alto na parte aérea. Os teores de Cd na parte aérea foram muito elevados em todas as espécies, encontrando-se acima da faixa considerada crítica para a maioria das plantas que, conforme Alloway (1990), situa-se entre 5 e 30 mg kg<sup>-1</sup>.

Os teores de Cu na MSPA também aumentaram com a PSC (dados não apresentados), porém não na mesma proporção do que foi observado para Cd e Zn, exceto para albizia, cujos teores aumentaram de cerca de 10, no controle, para 60 mg kg<sup>-1</sup> de Cu de matéria seca na mistura com 60% de PSC. Os teores de Pb, embora pouco consistentes, tenderam a aumentar com a contaminação e não foram influenciados pela inoculação (dados não apresentados). Os teores de Cd e de Zn, superiores aos considerados críticos para as plantas, são os principais elementos responsáveis pela inibição do crescimento e da CM neste estudo, corroborando os resultados de Marques et al. (1999) para mudas de espécies nativas não inoculadas com fungos micorrízicos.

Os teores de N, P, K, Ca, Mg e S sofreram influência dos tratamentos estudados, mas foram pouco úteis na explicação dos efeitos da contaminação e da inoculação. Por esta razão e por questão de espaço, estes resultados e os dos demais metais analisados não são apresentados, sendo os principais aspectos comentados a seguir. Em termos gerais, os teores de P aumentaram nas plantas com a elevação na PSC na mistura e com influência da inoculação apenas na mistura sem solo contaminado. As alterações verificadas para este e outros elementos podem resultar de efeitos de concentração nos tecidos provocados pelo menor crescimento das plantas no solo com excesso de metais. O enxofre que pode estar envolvido na proteção das plantas ao excesso de metais não apresentou variações consistentes nos teores em função dos tratamentos, sendo maior nas plantas inoculadas de tamboril, albizia e açoita-cavalo em níveis variados de contaminação. O aspecto preconizado por Diaz et al. (1996) de que a contaminação do solo reduz a absorção de P, o que poderia ser compensado pela micorrização, conferindo proteção à planta, não foi verificado neste estudo.

Verificou-se relação inversa entre o peso da MSPA e os teores de metais no solo e na planta, especialmente para Zn e Cd. Portanto, a elevação na PSC na mistura reduziu o crescimento em razão do aumento da disponibilidade de metais no solo (Quadro 2) e da maior absorção destes pelas plantas, acarretando sérias conseqüências ao crescimento e colonização micorrízica das plantas. As inúmeras e constantes interações do nível químico no solo e fisiológico na planta (Alloway, 1990) conferiram enorme complexidade a estudos dessa natureza, dificultando a elucidação dos elementos responsáveis pelos efeitos encontrados.

Mesmo considerando as limitações impostas pela multicontaminação, determinaram-se o nível crítico de toxidez (NCT) e o nível de contaminação capaz de reduzir a MSPA em 50% (N<sub>50</sub>) para Cd e Zn, empregando-se as relações entre os teores dos metais e a matéria seca relativa à máxima obtida com as plantas inoculadas (Figura 4). O tamboril apresentou maior NCT no solo para ambos os metais, seguido pelo fedegoso. Para N<sub>50</sub>, destacaram-se albizia e tamboril com valores próximos de 5.000 mg dm<sup>-3</sup> de Zn no solo (Quadro 4). Isto indica que essas duas espécies, embora sensíveis aos efeitos adversos desses metais, toleraram níveis bastante elevados destes no solo. Por apresentarem os mais baixos teores de Cd e Zn nos tecidos, tais espécies apresentaram mecanismos que lhes conferiram baixa absorção desses metais da solução no solo. No caso do tamboril, verificou-se ainda baixa translocação, o que contribuiu para os menores NCT para esses elementos na MSPA.

Determinaram-se, por meio do mesmo procedimento, o NCT para Zn e Cd na MSPA (Quadro 4). Os níveis críticos de toxidez variaram de 51 a 443 mg kg MSPA, para Zn, e de 2 para 15, para Cd, extrapolando, portanto, as faixas consideradas por Alloway (1990) e Marschner (1997).

Observou-se que o nível crítico de Cd de 15 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca para o fedegoso foi muito superior ao das demais espécies, o que também ocorreu para o Zn, evidenciando a tolerância cruzada de tal espécie (Baker, 1987) a esses metais. Deve-se considerar que tais valores foram determinados para plantas bem colonizadas pelos fungos micorrízicos arbusculares. Nos níveis críticos de toxidez de metais no solo (Quadro 4), verificou-se que plantas não inoculadas atingiram valores bem inferiores de matéria seca relativa às inoculadas, atingindo entre 19 e 20% da produção máxima no NCT e N<sub>50</sub>, respectivamente, no caso da albizia.

Assim, para o mesmo teor de metal na MSPA, plantas não inoculadas sofreram maiores danos que as inoculadas, fato também demonstrado por Diaz et al. (1996), para baixos níveis de contaminação. No NCT, que corresponde a 90% da MSPA máxima para plantas inoculadas, as plantas sem inoculação produziram, em média, apenas 39% dessa produção. Isto equivale a uma redução de produção de 51%. Já no N<sub>50</sub>, que corresponde a 50% da produção máxima, as plantas sem inoculação apresentaram MSPA relativa média de 30%; portanto, queda de apenas 20%. Como preconizado na micorrizologia (Siqueira & Saggin Jr., 1995), os benefícios dos fungos micorrízicos arbusculares relacionam-se com o grau de estresse a que a planta hospedeira está submetida, mas, quando o grau de estresse é muito elevado, pode ocorrer uma disfunção na simbiose eliminando seu caráter mutualista.

No caso do presente estudo, foram comprovados benefícios da inoculação nos menores níveis de contaminação do solo com metais pesados, tal como

verificado por Diaz et al. (1996) para espécies herbáceas. Apesar de evidentes benefícios, os mecanismos envolvidos nestas respostas são ainda objeto de especulação. Para Leyval et al. (1997), a imobilização dos metais no micélio constituem

provável mecanismo de proteção das micorrizas às plantas. A retenção do metal no micélio intra-radical reduz sua transferência para a parte aérea (Joner & Leyval, 1997) e, conseqüentemente, a toxidez da planta (Smith & Read, 1997).

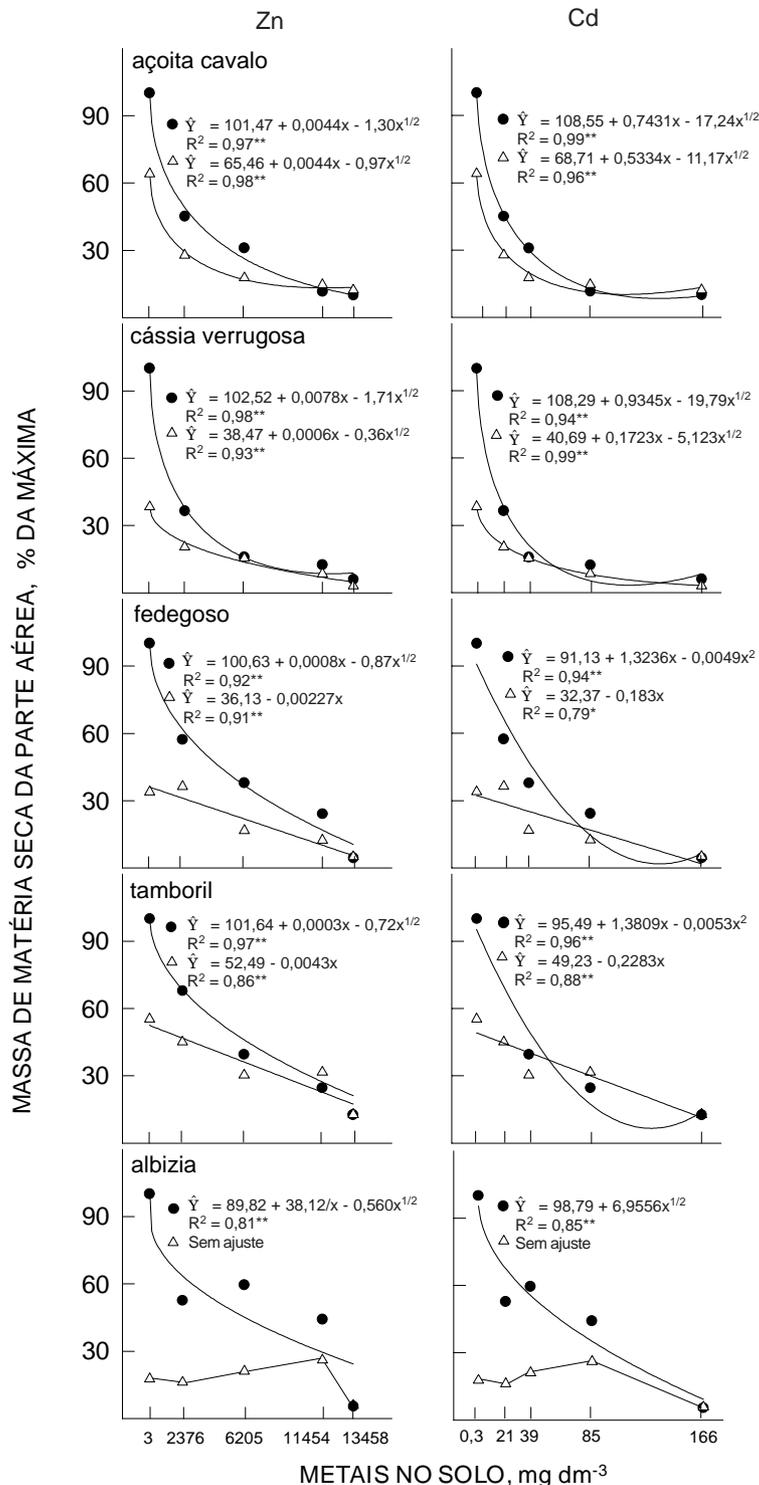


Figura 4. Relação entre massa de matéria seca relativa à máxima após 180 dias do transplântio e teores de Zn e Cd no solo no transplântio, para plantas inoculadas (—●—), e sem inoculação (—△—) com fungos micorrízicos arbusculares.

**Quadro 4. Níveis críticos de toxidez (NCT) para Zn e Cd no solo e na planta e nível de metal no solo para inibir em 50% a matéria seca relativa da parte aérea ( $N_{50}$ ) para as plantas inoculadas e matéria seca relativa, média para plantas não inoculadas ( $N_i$ ) no NCT e  $N_{50}$**

Espécie	NCT no solo		NCT na parte aérea da planta		$N_{50}$ no solo		Produção relativa da plantas $N_i$	
	Zn	Cd	Zn	Cd	Zn	Cd	NCT	$N_{50}$
	— mg dm <sup>3</sup> —		— mg kg <sup>-1</sup> —		— mg dm <sup>3</sup> —		- % do máximo -	
A. cavalo	83	1,3	215	6	2.223	17,0	57	31
C. verrugosa	57	0,9	260	9	1.350	12,5	34	27
Fedegoso	153	0,8	443	15	3.816	35,8	34	27
Tamboril	256	4,0	51	2	4.771	38,8	50	40
Albizia	16	1,6	69	2	4.985	49,2	19	20

Embora tenham sido verificados menores teores de Zn e Cd na parte aérea de algumas espécies quando inoculadas, os dados deste trabalho não permitem apoiar ou refutar o envolvimento da imobilização de metais no micélio em plantas inoculadas. Independentemente do mecanismo envolvido, Diaz et al. (1996), trabalhando com *Lygeum spartum* L., uma gramínea, e *Anthyllis cystisoides* L., uma leguminosa, as quais apresentam diferentes graus de dependência micorrízica, verificaram que a tolerância destas ao excesso de metais no solo não se relaciona com esta característica ou com a responsividade à inoculação.

No presente estudo, não se verificou relação ( $r = 0,24$ ;  $P \geq 0,05$ ) entre a PSC máxima, em que a micorriza favoreceu o crescimento das plantas, e a responsividade à micorriza de cada espécie. Verificou-se que o nível de contaminação até onde ainda existe mutualismo foi independente do benefício da inoculação. Como em condições normais esta resposta é mediada por efeitos nutricionais do fungo simbionte, é possível que os benefícios da simbiose para proteção dessas plantas ao excesso de metais resultem de outros mecanismos não relacionados com a maior absorção de nutrientes, os quais precisam ser mais bem investigados.

## CONCLUSÕES

1. A elevação da proporção de solo contaminado na mistura resultou em efeitos negativos acentuados no crescimento e colonização micorrízica das mudas de árvores transplantadas.

2. Os efeitos adversos da contaminação sobre o crescimento das espécies relacionaram-se com a maior absorção de metais, especialmente de Cd e Zn.

3. A inoculação das mudas com fungos micorrízicos arbusculares favoreceu o crescimento pós-transplântio no solo sem contaminação e nas misturas de solo com baixa proporção de solo contaminado.

4. A proporção de solo contaminado acima da qual não se verificou efeito da inoculação, assim como os níveis críticos de toxidez dos metais no solo e na matéria seca da planta, diferiu nas espécies estudadas.

5. Os níveis críticos de toxidez de Zn variaram de 16 a 256 mg dm<sup>-3</sup> de solo e 51 a 443 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca da parte aérea. Para o Cd, no solo, estes valores foram menores que 4 mg dm<sup>-3</sup> e, na planta, variaram de 2 a 15 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca das diferentes espécies.

6. Para as espécies e condições estudadas, os efeitos da micorriza na proteção das mudas ao excesso de metais no solo não se relacionaram com melhorias na absorção de nutrientes.

7. Diante da importância das micorrizas na ecologia da restauração, os mecanismos de tolerância conferidos pela simbiose precisam ser estudados.

## LITERATURA CITADA

- ALLOWAY, B.J. Heavy metals in soils. 1. Glasgow, Blackie Academic and Professional, 1990. 339p.
- ANSORENA, J.; MARINO, N. & LEGORBURU, I. Agriculture use of metal polluted soil near an old lead-zinc mine in Oiartzun (Basque Country, Spain). Environ. Technol., 16:213-222, 1995.
- BAKER, A.J.M. Metal tolerance. New Phytol., 106:93-111, 1987. (Suppl.)
- BARCELÓ, J. & POSCHENRIEDER, Ch. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. Suelo Planta, 2:344-261, 1992.

- BLANCHARD, R.W.; RENNINGER, G. & CALDWELL, A.C. Sulfur in plant material digestion with nitric and perchloric acid. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 29:71-72, 1965
- CUMMING, J.R. & WEINSTEIN, L.H. Aluminium- mycorrhizal interactions in the physiology of pitch pine seedlings. *Plant Soil*, 125:7-18, 1990.
- DANIELSON, R.E. & SUTHERLAND, P.L. Porosity. In: KLUTE, A., ed. *Methods of soil analysis*, 1. Physical and mineralogical methods. Winconsin, American Society of Agronomy, 1986. p.443-461.
- DAVIDE, A.C.; FARIA, J.M.R. & BOTELHO, S.A. Propagação de espécies florestais. Belo Horizonte, CEMIG/UFLA/FAEPE, 1995. 40p.
- DIAZ, G.; AZCÓN-AGUILAR, C. & HONRUBIA, M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cystisoides*. *Plant Soil*, 180:241-249, 1996.
- FABER, B.A.; ZASOSKI, R.J.; BURAU, R.G. & URIU, K. Zinc uptake by corn as affected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Plant Soil*, 129:121-130, 1990.
- GILDON, A. & TINKER, P.B. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, 95:247-261, 1983.
- GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytol.*, 84:489-500, 1980.
- HEGGO, A.; ANGLE, A.H. & CHANEY, R.L. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biol. Biochem.*, 22:865-869, 1990.
- JONER, E.J. & LEYVAL, C. Uptake of Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytol.*, 135:353-360, 1997.
- LEYVAL, C.; TURNAU, K. & HASELWANDTER, K. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 7:139-153, 1997.
- MARQUES, T.C.L.L.S.M.; MOREIRA, F.M. & SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teores de metais em mudas de espécies arbóreas tropicais em solo contaminado com metais pesados. *Pesq. Agron. Bras.*, 1999. (Aceito para publicação)
- MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. 2.ed. San Diego, Academic Press, 1997. 889p.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55:158-161, 1970.
- RAIJ, B. van. *Fertilidade do solo e adubação*. Piracicaba, Cres/Potafos, 1991. 343p.
- ROLDAN, A. & ALBALADEJO, J. Vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) fungal populations in a xeric torriorthent receiving urban refuse. *Soil Biol. Biochem.*, 25:451-456, 1993.
- SALT, D.E.; BLAYLOCK, M.; KUMAR, N.P.B.A.; DUSHENKOV, V.; ENSLEY, B.D.; CHET, I. & RASKIN, I. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metal from the environment using plants. *Biotechnol.*, 13:468-474, 1995.
- SINGH, B.R. & STEINNES S. Soil and water contamination by heavy metals In: LAL, R. & STEWART, B.A., eds. *Soil processes and water quality*. Boca Raton, Lewis Publisher, 1994. p.233-271
- SIQUEIRA, J.O. & SAGGIN Jr., O.J. The importance of mycorrhizae association in natural low-fertility soils. In: MACHADO, A.T.; MAGNAVACA, R.; PANDEY, S. & DA SILVA, A.F., eds. *INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENVIRONMENTAL STRESS. Maize in perspectives*, 1., Mexico, 1995. *Proceedings. Mexico, CIMMYT/UNDP*, 1995. p.239-280.
- SMITH, S.E. & READ, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. 2.ed. Cambridge, Academic Press, 1997. 605p.
- VETTORI, L. *Métodos de análises do solo*. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 1969. 24p. (Boletim Técnico, 7)
- WILKINSON, D.M. & DICKINSON, N.M. Metal resistance in trees: the role of mycorrhizae. *Oikos*, 72:1-2, 1995.
- ZAROSKY, R.J. & BURAU, R.G. A rapid nitric perchloric acid digestion method for multi element tissue analysis. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 8:425-436, 1977.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. & SILVEIRA Jr., P. *Sistemas de análises estatística para microcomputadores (SANEST)*. Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 1984. 151p.