



DISSERTAÇÃO

**DESENVOLVIMENTO DE FEIJÃO-DE-
PORCO [*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.] NA
PRESENÇA DE CHUMBO**

ELLEN LOREGIAN DE ALMEIDA

**Campinas, SP
2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

INSTITUTO AGRONÔMICO

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA
TROPICAL E SUBTROPICAL**

**DESENVOLVIMENTO DE FEIJÃO-DE-PORCO [*Canavalia
ensiformis* (L.) D.C.] NA PRESENÇA DE CHUMBO**

ELLEN LOREGIAN DE ALMEIDA

Orientadora: Mônica Ferreira de Abreu

Co-orientadora: Ana Maria Magalhães Andrade Lagôa

Dissertação submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Mestre** em
Agricultura Tropical e Subtropical Área de
Concentração em Gestão de Recursos
Agroambientais

Campinas, SP
Abril 2007

À Dona Tekinha (*in memoriam*)

À minha família

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- À minha orientadora, Dra. Mônica Ferreira de Abreu pelo apoio, incentivo, amizade e orientação;
- À minha co-orientadora, Dra. Ana Maria Magalhães Andrade Lagoa pelo apoio, incentivo, amizade e orientação;
- À estagiária Fernanda Castro pela importante contribuição na realização deste trabalho;
- À Dra. Marlene Aparecida Schiavinato pela contribuição na realização deste trabalho;
- Aos funcionários do setor de Fertilidade do Solo, Carmem, Luiz e Terezinha pela amizade, apoio e ajuda em minhas análises;
- Aos amigos da pós-graduação que dividiram comigo momentos bons e ruins;
- Ao conselho de Gestão de Recursos Agroambientais pelo apoio e compreensão, especialmente a Dra. Sueli dos Santos Freitas;
- Aos amigos da Climatologia pelos anos de convivência;
- Ao Instituto Agrônomo de Campinas pela oportunidade de desenvolver meu trabalho em suas dependências e pela oportunidade de crescimento pessoal e moral que me proporcionou;
- Ao Departamento de Fisiologia Vegetal da Unicamp pela oportunidade de desenvolver meu trabalho em suas dependências;
- À minha família pelo apoio em todos os momentos que precisei;
- Ao Anderson Altivo por todo apoio e carinho.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE ANEXOS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Considerações Gerais.....	3
2.2 Chumbo.....	3
2.3 Fitorremediação.....	5
2.3.1 Fitoextração.....	6
2.4 Microbiota do Solo.....	8
2.5 Leguminosas.....	9
2.5.1 <i>Canavalia ensiformis</i>	10
2.6 Análise Química do Material Vegetal.....	10
2.6.1 O procedimento da via seca.....	11
2.6.2 O procedimento da via úmida.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1 Local e Condições Ambientais.....	12
3.2 Espécie Vegetal Cultivada.....	12
3.3 Tratamentos.....	13
3.4 Desenvolvimento do Experimento.....	13
3.5 Medidas de Crescimento.....	14
3.6 Análise Química.....	14
3.7 Determinação de Nitrogênio.....	16
3.8 Cálculo do Índice de Translocação.....	16
3.9 Cálculo do Índice de Produção Relativa.....	16
3.10 Delineamento Experimental e Análise Estatística.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1 Desenvolvimento de <i>Canavalia ensiformis</i> (L.) D.C. na presença de Pb.....	17
4.2 Medidas de Altura.....	17
4.3 Número de Folhas.....	20
4.4 Área Foliar.....	20
4.5 Produção de Matéria Seca.....	24
4.6 Métodos de Análise de Planta.....	29
4.7 Conteúdo de Pb na raiz.....	30
4.8 Conteúdo de Pb na parte aérea.....	34
4.9 Nitrogênio na parte aérea.....	39
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
6 CONCLUSÕES.....	48
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
7 ANEXO.....	56
7.1 Anexo I.....	56
7.2 Anexo II.....	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 -	Programação do forno de microondas especial (CEM-Mars-Xpress)....	15
Tabela 2 -	Índice de produção relativa em plantas de feijão-de-porco, expostas por 14, 22 e 27 ao chumbo.....	29
Tabela 3 -	Comparação entre os métodos de via seca e microondas em diferentes materiais com valores de referencia para o Pb.....	30
Tabela 4 -	Índice de translocação de Pb em plantas de feijão-de-porco, expostas por 14, 22 e 27 ao chumbo.....	39
Tabela 5 -	Teste F para diferentes variáveis obtidas em plantas de <i>Canavalia ensiformis</i> L. D.C, 14 dias após a aplicação de Pb, coleta, submetidas a diferentes concentrações de chumbo sob temperatura e condições fotoperiódicas naturais.....	44
Tabela 6 -	Teste F para diferentes variáveis obtidas em plantas de <i>Canavalia ensiformis</i> L. D.C, 22 dias após a aplicação de Pb, coleta, submetidas a diferentes concentrações de chumbo sob temperatura e condições fotoperiódicas naturais.....	44
Tabela 7 -	Teste F para diferentes variáveis obtidas em plantas de <i>Canavalia ensiformis</i> L. D.C, 27 dias após a aplicação de Pb, coleta, submetidas a diferentes concentrações de chumbo sob temperatura e condições fotoperiódicas naturais.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 -	Altura de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B) submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. * Significativo a 5%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%.....	18
Figura 2 -	Altura de plantas de feijão-de-porco, com 22 dias (A) e 27 dias (B) após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos para cada concentração de Pb.....	19
Figura 3 -	Número de folhas de plantas de feijão-de-porco com 14 (A), 22 (B) e 27 (C) dias após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos, teste Tukey a 5%, comparando entre tratamentos para cada concentração de Pb.....	21
Figura 4 -	Área foliar de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. * Significativo a 5%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos, teste Tukey a 5%, comparando entre tratamentos para cada concentração de Pb.....	22
Figura 5 -	Área foliar de plantas de feijão-de-porco, com 22 dias (A) e 27 dias (B), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos, teste Tukey a 5%, comparando entre tratamentos para cada concentração de Pb.....	23
Figura 6 -	Matéria seca de plantas de feijão-de-porco, raiz (A), caule (B) e folha (C), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos para cada concentração de Pb.....	25
Figura 7 -	Matéria seca de plantas de feijão-de-porco, raiz (A), caule (B) e folha (C), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos para cada concentração de Pb.....	27
Figura 8 -	Matéria seca de plantas de feijão-de-porco, raiz (A), caule (B) e folha (C), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 27 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%,	

	comparando-se entre os tratamentos para cada concentração de Pb.....	28
Figura 9 -	Teor de chumbo nas raízes de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. ** Significativo a 1%.....	31
Figura 10 -	Teor de chumbo nas raízes de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. ** Significativo a 1%.....	32
Figura 11 -	Teor de chumbo nas raízes de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. ** Significativo a 1%.....	33
Figura 12 -	Teor de chumbo na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. * Significativo a 5%, ** Significativo a 1%...	35
Figura 13 -	Teor de chumbo na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. * Significativo a 5%, ** Significativo a 1%...	36
Figura 14 -	Teor de chumbo na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 27 dias. ** Significativo a 1%.....	37
Figura 15 -	Teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. ** Significativo a 1%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%.....	40
Figura 16 -	Teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. ** Significativo a 1%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%.....	41
Figura 17 -	Teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão-de-porco, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 27 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%.....	42

LISTA DE ANEXOS

Anexo I -	Composição química da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1939) modificada.....	57
Anexo II -	Composição química da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1939) modificada sem adição de nitrogênio.....	58

ALMEIDA, Ellen Loregian de. **Desenvolvimento de feijão-de-porco [*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.] na presença de chumbo**. 2007. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Pós-Graduação – IAC.

RESUMO

O aumento da população brasileira tem ocorrido sem planejamento e o crescimento desorganizado das cidades vem acarretando intensas mudanças no meio ambiente, principalmente pela degradação de áreas florestais, poluição de solos e de mananciais e contaminação de extensas áreas com metais pesados pela deposição de resíduos industriais. O excesso de metais no solo pode se tornar um perigo para a saúde do homem, dos animais e das plantas, isto é, para a segurança ambiental de modo geral. Qualquer desequilíbrio ambiental traz consigo a necessidade de se pesquisar técnicas alternativas que possam minimizar os efeitos causados pela poluição. Tais técnicas devem prover soluções que englobem: eficiência na descontaminação, simplicidade e rapidez na execução do processo e menor custo. A fitorremediação é uma técnica com aplicação crescente em áreas com solos poluídos com o objetivo de descontaminação do solo e da água, utilizando-se plantas como agente descontaminador. O presente trabalho teve por objetivo estudar o potencial de extração de Pb pela leguminosa feijão-de-porco [*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.], por meio da avaliação dos efeitos desse metal pesado na fisiologia da planta e na nodulação das raízes. O experimento foi realizado sob condições naturais de luz e temperatura, em casa de vegetação, em vasos contendo 2 L de areia, quatro concentrações de Pb (0, 250, 500 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) com e sem inoculação de estirpes de rizóbio. Foi realizada a análise de crescimento de todas as partes das plantas e também a quantificação de Pb e de nitrogênio total. Verificou-se que o desenvolvimento das plantas de feijão-de-porco não foi inibido e as plantas não apresentaram sintomas de fitotoxicidade. Porém, na maior concentração de Pb, as plantas não apresentaram produção de nódulos radiculares. Observou-se, ainda, que essa espécie apresentou baixos índices de transporte de Pb para a parte aérea, atingindo um máximo de 10%. Concluiu-se que as plantas de feijão-de-porco têm potencial para a fitoextração de Pb, atingindo 400 mg kg^{-1} de Pb nas raízes e que a fixação de N nos nódulos pode ser afetada pela presença de Pb.

Palavras chave: fitorremediação, *Canavalia ensiformis* (L.) ~~Exi~~

ALMEIDA, Ellen Loregian de. **Jack Beans [*Canavalia ensiformis* (L.) D.C.] growth and development in presence of lead.** 2007. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Pós-Graduação – IAC.

ABSTRACT

Brazilian population has increased without adequate planning and the disorganized city growth has caused serious environment changes, mainly represented by forest degradation, soil and water pollution, and frequently, heavy metal contamination of extensive areas by industry residue disposal. Excess soil metal concentrations may be hazardous for human, animal and plant health, that is, for all environment safety in general. Any environment disequilibrium demands research on alternative technologies in order to minimize the pollution effects. Such technologies are expected to provide effective decontamination, easy and fast execution processes and low costs. Phytoremediation is one technique based on the use of plants as decontaminator agent and has been increasingly applied with the objective of soil and water remediation in polluted areas. The objective of the present research work was to study a leguminous species – jack beans [*Canavalia ensiformis* (L.)] - as Pb-phytoextractor through the evaluation of Pb effects on the plant physiology and root nodulation. The experiment was carried in greenhouse under natural conditions of light and temperature, in pots containing 2 L of sand, treated with four Pb concentrations (0; 250; 500 and 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) in the presence and absence of rhizobium stirps. All plant parts were submitted to growth analysis and tissue quantification for total Pb and N concentrations. Jack bean plant development was not affected by Pb treatments and Pb-toxicity symptoms were not observed. However, plants treated with the highest Pb concentration were not able to produce root nodules. Jack bean plants presented low shoot/root Pb translocation indexes, reaching up to 10%. Despite root nodulation and N fixation can be drastically reduced in the presence of high Pb concentrations, it was concluded that jack bean plants can be considered potential Pb phytoextractors, since root Pb concentrations reached up to 400 mg kg^{-1} .

Key-words: phytoremediation, *Canavalia ensiformis* (L.) D.C., jack beans, root nodules, rhizobium, lead, plant Pb concentration.

1 INTRODUÇÃO

O crescente aumento da população ao longo dos últimos anos ocorreu de forma desorganizada e sem infra-estrutura (IBGE, 2006), resultando em intensas mudanças no meio ambiente, principalmente na degradação de áreas florestais, na poluição do solo e de mananciais e na contaminação de extensas áreas por resíduos que podem conter grandes quantidades de metais pesados (MPs).

A existência de uma área contaminada pode gerar problemas como danos à saúde humana, comprometimento da qualidade dos recursos hídricos, restrições ao uso do solo, além de danos ao meio ambiente. Até maio de 2006 o registro de áreas contaminadas no Estado de São Paulo totalizou 1.664 áreas. Os principais grupos de contaminantes encontrados nas áreas contaminadas foram: solventes aromáticos, combustíveis líquidos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), metais e solventes halogenados, sendo que os metais ocupam o quarto lugar (CETESB, 2006).

Nos Estados Unidos existe uma lista com 275 substâncias orgânicas e inorgânicas cujo controle é considerado prioritário, baseando-se na combinação de sua frequência, toxicidade e potencial de exposição humana; o chumbo (Pb) ocupa o segundo lugar (ATSDR, 2006).

A contaminação do solo por metais tóxicos frequentemente é resultado de atividades humanas, especialmente aquelas relacionadas com mineração, emissão, disposição ou vazamento de resíduos industriais, aplicação de lodo de esgoto, fertilizantes e pesticidas em terra agrícolas (MALAVOLTA, 1994).

A preocupação ambiental em relação às áreas contaminadas por MPs é agravada quando esses entram na cadeia alimentar (ABREU et al., 1995).

Todo esse desequilíbrio ambiental trouxe consigo a necessidade de se pesquisar técnicas que possam minimizar os efeitos causados pela poluição ambiental.

Segundo ALLEN et al. (1995), nos últimos vinte anos, a ênfase em química de metais no solo trocou o foco do problema de escassez de nutrientes na planta pelo aparecimento da poluição causada pelo excesso de contribuição das várias ações de fontes antropogênicas.

A remediação de áreas contaminadas é uma exigência legal e um compromisso social que precisam ser executados, criando uma enorme demanda tecnológica. As tecnologias efetivas e econômicas para remediação das áreas contaminadas por MPs ainda permanecem indefinidas. As que se destacam são a biorremediação e a

fitorremediação, que promovem a desintoxicação do local ou removem os elementos contaminantes do solo (ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000).

Segundo PIRES et al. (2005), as técnicas que buscam alternativas para despoluir áreas contaminadas por diversos compostos orgânicos devem possuir soluções que englobam: eficiência na descontaminação, simplicidade na execução, tempo demandado pelo processo e menor custo.

A fitorremediação é uma técnica com aplicação crescente em áreas com solos poluídos. Essa técnica tem como objetivo descontaminar o solo e a água, utilizando-se plantas como agente descontaminador (NEWMAN et al., 1998) e pode ser usada em áreas contaminadas por substâncias orgânicas e/ou inorgânicas, como metais pesados, agrotóxicos, subprodutos tóxicos das indústrias e pesticidas (CUNNINGHAM et al., 1996).

A absorção de nutrientes e a diminuição da concentração de metais do solo pela maioria das plantas com sementes é bastante favorecida pela ocorrência de bactérias e fungos associados ao sistema radicular dessas plantas (LASAT, 2002).

As bactérias conhecidas genericamente como rizóbios são fixadoras de nitrogênio e vivem em simbiose com as leguminosas, formando nódulos nas suas raízes, que absorvem o nitrogênio do ar e com este sintetizam substâncias nitrogenadas, também utilizadas pela planta hospedeira. Em contrapartida, a leguminosa fornece açúcares e outros compostos orgânicos às bactérias de seus nódulos (KERBAUY, 2004).

O estudo e uso da fitorremediação no Brasil precisam ser intensificados, são necessárias mais pesquisas que utilizem espécies de clima tropical, desenvolvidas em níveis crescentes de contaminação de MPs, para que se possa avaliar a capacidade efetiva dessas plantas como remediadoras de áreas contaminadas.

A hipótese deste trabalho é que a espécie *Canavalia ensiformis* (L.) D. C. é tolerante a altas concentrações de Pb; portanto, os objetivos deste trabalho foram: a) analisar a tolerância da leguminosa *Canavalia ensiformis* (L.) D. C. ao metal Pb, b) determinar a influência do MP Pb na nodulação e na fixação de N₂ por essa espécie, c) determinar acúmulo de Pb nas raízes e na parte aérea, d) comparar o método via seca utilizado em rotina com o método aquecimento por microondas para determinação do Pb no tecido vegetal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações Gerais

Consideram-se metais pesados (MPs) cerca de 65 elementos metálicos, de densidade maior que 5 g cm^{-3} , que exercem efeitos tóxicos em células microbianas e em outras formas de vida (ADRIANO, 1986; TAN, 2000). Alguns metais como Rb, Cs, Al, Cd, Ag, Au, Hg e Pb não apresentam uma função essencial em plantas (ANDRADE, 2001).

Os MPs podem contaminar o meio ambiente e, por causa de suas propriedades de persistência no ambiente, bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica, podem atuar provocando alterações nos parâmetros físicos, químicos e biológicos de um determinado ecossistema, e causar sérios problemas toxicológicos para os organismos vivos (BAIRD, 1995).

As plantas, quando submetidas ao ambiente contaminado por MPs, podem apresentar uma série de distúrbios fisiológicos e nutricionais (AMARAL, 1993; PAIVA et al., 2002). Dentre eles tem-se a interferência desses metais sobre a absorção, o transporte e as funções dos nutrientes (PAIVA et al., 2002).

Segundo ACCIOLY & SIQUEIRA (2000), a remediação de áreas degradadas é geralmente uma exigência legal e uma obrigação social que precisa ser executada. A fitoextração é praticada em várias partes do mundo (LASAT, 2002).

A remediação de áreas contaminadas inclui: diagnóstico, análise de risco, estratégias de mitigação da fitotoxicidade e seleção de plantas tolerantes aos MPs (RIBEIRA FILHO et al., 2001).

2.2 Chumbo

O Pb é um elemento de ocorrência natural, o MP mais profuso no meio ambiente (BAIRD, 1995; AZEVEDO, 2003) e o maior contaminante do solo (LASAT, 2000). É encontrado em relativa abundância na crosta terrestre, quase sempre como sulfeto de chumbo, sendo que as maiores fontes geológicas são as rochas ígneas e metamórficas. As suas principais fontes naturais incluem as emissões vulcânicas, o intemperismo das rochas e as emissões provenientes do mar (BAIRD, 1995).

Na solução do solo, o Pb geralmente ocorre como Pb^{2+} (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 1992), e somente pode ser disponível às plantas quando se encontra na forma de íon livre e complexo solúvel ou adsorvido aos constituintes inorgânicos e sítios de trocas (LASAT, 2002).

O Pb apresenta baixa solubilidade e mobilidade e, devido a isso, quando é proveniente de fontes antropogênicas, encontra-se preferencialmente no horizonte superficial do perfil do solo. Segundo ABREU et al. (1998) os maiores teores de Pb encontram-se nos 10 cm iniciais de perfil.

Segundo BUDAVARI et al. (1989), o Pb é utilizado industrialmente desde os povos antigos. Ele foi um dos principais metais a ser explorado pelo homem, sendo conhecido desde 3500 a.C. Durante o Império Romano, grandes quantidades de Pb (80.000 a 100.000 ton ano⁻¹) foram necessárias para sustentar o alto padrão de vida da sociedade. Embora as minas fossem operadas em pequena escala, a fundição descontrolada de grandes quantidades de minérios em “fogos ao ar livre” resultou em substanciais emissões de MPs para a atmosfera (NRIAGU, 1996).

O Pb foi muito usado no passado em sistemas condutores e de armazenamento de água e alimentos, tendo sido responsável por inúmeros casos de intoxicação, ocasionando diversos problemas de saúde e intoxicação crônica (NRIAGU, 1983; SOUSA NETO & COSENZA, 1993).

Calcula-se que cerca de 300 milhões de toneladas de Pb já foram expostas no meio ambiente durante os últimos cinco milênios, especialmente nos últimos 500 anos. O consumo de Pb aumentou significativamente nos países em desenvolvimento entre 1979 e 1990 (EXPOSIÇÃO, 2000). Devido à sua larga aplicação, é encontrado atualmente bastante disperso no nosso meio ambiente, aumentando sua concentração normal nos organismos vivos (NOGUEIRA, 1979).

A contaminação de Pb nas águas, solo e ar continua significativa. Calcula-se que a concentração de chumbo no sangue era até 500 vezes menor nos seres humanos da era pré-industrial (EXPOSIÇÃO, 2000). Assim, muitos seres humanos têm Pb no organismo como resultado da exposição às fontes exógenas (SARYAN & ZENZ, 1994). Muitos efeitos adversos à saúde são atribuídos às altas concentrações de Pb no corpo, incluindo toxicidade nervosa, hematopoiética, renal, endócrina e no sistema esquelético, sendo o sistema nervoso central, o primeiro a ser afetado (PERAZA et al., 1998).

Segundo a Agência para Substâncias Tóxicas e Controle de Doenças, em uma lista de 275 substâncias orgânicas e inorgânicas prioritárias nos EUA, baseando-se na

combinação de: potencial de exposição humana, frequência e toxicidade, o Pb ocupa o segundo lugar (ATSDR, 2006).

Segundo a CETESB (2001), a contaminação por Pb no Estado de São Paulo é alta. Os valores de contaminação do solo são diferenciados para área agrícola, residencial e industrial, sendo respectivamente 200, 350 e 1200 mg kg⁻¹.

A forma de distribuição de Pb nas plantas é muito variável com a espécie, dependendo principalmente das condições ambientais em que a planta está inserida. Portanto, é de se esperar que haja maior acúmulo nas raízes de plantas que crescem em solos ou soluções contaminadas, mas espera-se que haja maior acúmulo na parte aérea de plantas que estão submetidas à poluição do ar contaminado por este metal (PAIVA, 2003).

A absorção de Pb dá-se por mecanismo passivo, sendo absorvido pelos pêlos radiculares (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 1984). Após ser absorvido, o Pb causa diversos problemas no metabolismo das plantas, entre eles: inibição de atividades enzimáticas, distúrbios de nutrição mineral, de balanço hídrico, mudanças hormonais e alterações na permeabilidade da membrana celular. Altas concentrações podem levar à morte celular (SERIGIN & IVANOV, 2001).

KABATA-PENDIAS & PENDIAS (1992) também relatam efeitos adversos causados por Pb como alterações nos processos de fotossíntese, de mitose e absorção de água, levando a murchamento das folhas mais velhas, folhagem atrofiada e raízes pouco desenvolvidas.

2.3 Fitorremediação

A recuperação de áreas contaminadas pode ser feita através de vários métodos, sendo que alguns processos deslocam a matéria contaminada para local distante, causando riscos de contaminação secundária e aumentando ainda mais os custos com tratamento. Por isso, passou-se a dar preferência por métodos *in situ* que perturbem menos o ambiente e sejam mais econômicos. Dentro deste contexto, a biotecnologia oferece a fitorremediação como alternativa capaz de empregar sistemas vegetais fotossintetizantes e sua microbiota com o fim de desintoxicar ambientes (CUNNINGHAM et al., 1996).

A fitorremediação é uma estratégia de biorremediação que consiste no emprego de plantas, da microbiota associada, no uso de amenizantes do solo, além de práticas

agronômicas que, se aplicadas em conjunto, removem, imobilizam ou tornam os contaminantes inofensivos ao ecossistema (CUNNINGHAM et al.; 1996; ACCIOLY & SIQUEIRA, 2000). Segundo CHANEY et al. (1997), as plantas podem remediar os solos contaminados com metais pesados através dos seguintes mecanismos: absorção e acumulação dos MP nos tecidos das plantas (fitoextração); adsorção dos MP no sistema radicular, imobilizando os contaminantes (fitoadsorção); liberação para o solo de oxigênio e outros compostos que podem imobilizar os MP (fitoestabilização) e estimulação da biorremediação por fungos ou outros microrganismos localizados no sistema solo-raiz (rizorremediação). A fitorremediação também pode ocorrer pela liberação de exsudatos radiculares, que estimulam a atividade microbiana, degradando o composto no solo, ocorrendo a biorremediação rizosférica de compostos tóxicos (PIRES et al., 2003). No campo da fitorremediação de solos contaminados com MP, a fitoextração tem sido a técnica mais estudada devido, sobretudo, à possibilidade da elevada eficiência que pode apresentar e ao baixo custo (KHAN et al., 2000).

Nos últimos 10 anos, surgiram nos EUA e na Europa inúmeras companhias que exploram a fitorremediação com fins lucrativos, como a norte americana Phytotech e a alemã BioPlanta, e indústrias multinacionais, como Union Carbide, Monsanto e Rhone-Poulanc, que empregam a fitorremediação em seus próprios sítios contaminados (GLASS, 1998).

Segundo ACCIOLY & SIQUEIRA (2000), a fitorremediação apresenta inúmeras vantagens, entre elas: baixo custo, aplicação *in situ*, aplicação a grande quantidade de contaminates. As principais desvantagens seriam: lentidão quando comparada a outras alternativas, pode não atingir 100% de remediação e pode resultar em bioacumulação em animais.

2.3.1 Fitoextração

Algumas plantas são hiperacumuladoras de metais, ou seja, são capazes de absorver através das suas raízes teores muito elevados desses contaminantes e portanto, podem ser utilizadas nos processos de fitoextração. Esse potencial desenvolveu-se, provavelmente, durante longos períodos de tempo à medida que as plantas cresciam em solos contendo elevadas concentrações de MP, como por exemplo, os solos perto de extrações mineiras. A hiperacumulação pode ter evoluído, também, como mecanismo

de adaptação contra os herbívoros. Efetivamente, os teores elevados em metais nas folhas, protegem a planta contra herbívoros (especialmente insetos) e contra microrganismos patogênicos, protegendo também de doenças e pestes (KHAN et al., 2000). A utilização de plantas hiperacumuladoras para remover metais em excesso no solo surgiu com a descoberta de diferentes plantas que acumulavam altas concentrações de metais em sua folhagem (GARBISU & ALKORTA, 2001).

As plantas hiperacumuladoras têm a capacidade de armazenar altas concentrações de metais específicos na parte aérea (0,1% a 1% da matéria seca, dependendo do metal) (MCGRATH, 1998). Em feijão o Pb total é de 10.600 mg kg⁻¹ (SHEN et al., 2002).

A fitoextração refere-se ao uso de plantas acumuladoras, que conseguem extrair poluentes do solo e transportá-los para a parte aérea. As plantas ideais para fitoextração devem ter o potencial de: acumular o metal a ser extraído, transportar e acumular o MP preferencialmente na parte aérea; tolerar grande concentração do metal no solo; ter crescimento rápido e grande concentração de biomassa; ser de fácil cultivo e colheita (MARCHIOL et al., 2004).

A fitoextração emprega plantas especializadas em acumular altas taxas de MPs em seus tecidos como: >10.000 mg kg⁻¹ de Zn e Mn; >1.000 mg kg⁻¹ de Pb, Ni e Cu; >100 mg kg⁻¹ de Cd (RASKIN et al., 1994). Conforme HUANG et al. (1997), para o Pb, essa técnica busca reduzir esse metal para níveis aceitáveis no solo em um tempo de 3-20 anos. Para que esse objetivo seja alcançado é necessário, entre outros aspectos, obter espécies/cultivares hábeis em acumular mais que 1% de Pb na parte aérea, produzindo mais que 20 toneladas de matéria aérea ha⁻¹ ano⁻¹.

O potencial para fitoextração depende de interação entre solo, metal e planta (LASAT, 2002). Se a contaminação do solo irá se tornar ambientalmente tóxica ou não depende de vários fatores: das condições físico-químicas do solo como acidez, umidade, presença de argilas, óxidos de Fe/Mn e matéria orgânica; do solo e da hidrologia, que podem não só diluir o contaminante como também transportar o efeito poluente da sua origem a uma nova área e dos componentes microbiano e vegetal do ecossistema que podem absorver e reciclar o metal (ANDRADE, 2001).

A fitoextração envolve a absorção dos contaminantes pelas raízes, onde são armazenados ou são transportados e acumulados nas partes aéreas. É aplicada principalmente para remediar áreas contaminadas pelos metais (Cd, Ni, Cu, Zn, Pb)

podendo ser usada também para outros compostos inorgânicos (Se) e compostos orgânicos (MCGRATH, 1998).

A fitoextração é uma opção viável de remediação e pode satisfazer regulamentos ambientais e, simultaneamente, ser uma das tecnologias mais eficientes em relação ao custo/benefício, tanto sozinha quanto combinada com outra tecnologia de remediação (ROBINSON et al., 2003).

2.4 Microbiota do Solo

Muitas evidências sugerem que os microrganismos do solo possuem mecanismos capazes de alterar a mobilidade do metal contaminante, com efeitos subsequentes no potencial de absorção pela raiz. Por exemplo, microrganismos podem catalisar reações de oxidação-redução, mudando assim, a mobilidade de metais no solo. Associações micorrízicas, por exemplo, parecem ser efetivas na diminuição da concentração de metais no solo (LASAT, 2002).

Mudanças na composição ou na atividade da comunidade microbiana do solo podem ter efeitos prejudiciais no funcionamento do ecossistema. A contaminação por metais, por exemplo, pode afetar drasticamente o crescimento, o metabolismo e a diferenciação celular dos microrganismos do solo e a reciclagem de nutrientes. Isto ocorre devido à multiplicidade e à variedade de componentes da parede celular e de outras estruturas externas dos microrganismos que se ligam ao MP. Os efeitos tóxicos dos MPs nos microrganismos devem-se ao bloqueio de grupos funcionais de moléculas importantes, como enzimas, à desnaturação de proteínas ou à perda de integridade das membranas celulares. Em termos gerais, é frequentemente estabelecido que os metais tóxicos afetam os microrganismos em ambientes naturais, reduzindo sua biomassa e sua diversidade e enriquecendo ou selecionando uma comunidade resistente, ou seja, a comunidade microbiana é afetada quantitativa e qualitativamente (ANDRADE, 2001).

Na associação simbiótica entre leguminosas e rizóbios com a formação de nódulos radiculares, as primeiras suprem as bactérias com fotoassimilados, principalmente sacarose, que são fonte de energia para a atividade da nitrogenase, enzima responsável pelo processo de fixação do N₂ em amônio. As bactérias, por sua vez, suprem as plantas com amônio que é, posteriormente, utilizado por estas para a produção de compostos nitrogenados (CORDEIRO, 2004).

Algumas plantas conseguem sobreviver em locais contaminados devido à sua tolerância e à sua capacidade de desenvolver, em associação com bactérias do solo, nódulos fixadores de nitrogênio importantes como coletores de metal. Plantas de sesbânia sem rizóbios inoculados apresentaram crescimento em solo contaminado bem menor que em plantas com nódulos, comprovando a influência da nodulação no desenvolvimento de plantas em solos contaminados (CHAN et al., 2003). Algumas características estruturais e bioquímicas conferem aos microrganismos capacidade de sobreviver na presença de concentrações altas de MP como, por exemplo, paredes celulares impermeáveis a determinados elementos, produção de polissacarídeos extracelulares ou excreção de outros metabólitos que imobilizam o metal potencialmente tóxico (ANDRADE, 2001).

A força de ligação ou adesão das bactérias às partículas do solo ou à planta pode ser muito importante para o desenvolvimento da tolerância ao metal (ALMÁS et al., 2005).

2.5 Leguminosas

As leguminosas já eram utilizadas pelo homem como alimento e para enriquecimento do solo antes mesmo de se conhecer a habilidade que membros dessa família tinham em se associar com rizóbios e desenvolver nódulos fixadores de nitrogênio atmosférico (N_2) (KERBAUY, 2004)

As leguminosas capazes de estabelecer simbiose eficiente com bactérias fixadoras de N_2 são espécies promissoras em programas de revegetação de solos degradados. O desenvolvimento de trabalhos de revegetação com leguminosas em solos contaminados requer, entre outros fatores, a obtenção de rizóbios tolerantes à toxicidade de metais pesados (MATSUDA et al., 2002).

Muitos microorganismos associam-se simbioticamente com outros organismos sendo que, a associação mais importante economicamente é a de bactérias do grupo dos rizóbios com plantas da família das leguminosas. Desta maneira, as leguminosas constituem uma das mais importantes famílias de plantas agrícolas sendo uma importante fonte de adubo para outras culturas no processo de adubação verde ou em consórcio com outras espécies (UDVARDI et al., 1992).

A associação entre leguminosa e rizóbio torna-se muito interessante, uma vez que a revegetação pode ser obtida eficientemente e com um baixo aporte de

fertilizantes, restringindo-se àqueles que apresentam lenta solubilização para a solução do solo, como é o caso dos fosfatos de rocha (FRANCO & FARIA, 1997). O nitrogênio é o nutriente mineral essencial mais limitante para o crescimento das plantas, ressaltando a importância de cultivos com associação de leguminosas e bactérias. (HARDY & HAVELKA, 1975)

2.5.1 *Canavalia ensiformis*

A espécie *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. (feijão-de-porco) é uma leguminosa utilizada para adubação verde, que apresenta simbiose com bactérias da família Rhizobiaceae, genericamente denominada rizóbio.

O feijão-de-porco é uma planta tropical, da família Fabaceae, amplamente cultivada nos países tropicais como cobertura verde. Sua associação, com bactérias fixadoras de nitrogênio ocorre naturalmente, resultando na formação de nódulos radiculares (LORENZI, 1995).

A planta, ereta, anual, desenvolve-se bem em solos ácidos. Suas folhas grandes fornecem boa cobertura. Além disso é comestível: suas folhas são usadas como verdura, e as sementes são cozidas como feijão, embora tenham que passar por tratamento prévio para eliminar as várias toxinas que possuem. Entre essas estão um aminoácido que destrói células intestinais, diminuindo a absorção de alimentos, e um hemoaglutinante que é usado em laboratórios clínicos. A planta tem também um neurotóxico, mas que é destruído na ingestão (LORENZI, 1995).

Do feijão-de-porco têm sido extraídos os princípios ativos que agem como inseticidas, herbicidas - a planta apresenta alelopatia - e fungicidas. A Radiobrás anunciou a descoberta nessa planta de uma proteína semelhante à insulina (LORENZI, 1995).

2.6 Análise química do material vegetal

Para a análise química do material vegetal existem basicamente dois processos de destruição da matéria orgânica para a determinação de nutrientes: a via seca, que trata da incineração das amostras e dissolução das cinzas com ácido, a quente, e a via úmida, que utiliza um ácido forte ou a combinação de ácidos a quente. Cada processo

apresenta aspectos favoráveis e há muita controvérsia quanto ao melhor método para a solubilização das amostras (JONES & CASE, 1990; HOENING, 1995).

2.6.1 O procedimento da via seca

No método da via seca o oxigênio atmosférico serve como oxidante para a queima da matéria orgânica, produzindo um resíduo inorgânico. Posteriormente esse resíduo é então dissolvido por ácidos (CHRISTIAN, 1994). A via seca, preferida por BATAGLIA et al. (1983), é um método simples e permite que se trabalhe com uma quantidade maior de amostra e um melhor controle das contaminações provenientes de ácidos. No entanto, ela apresenta limitações, pois muitos elementos podem ser volatilizados, como o enxofre, o arsênio, o selênio, o mercúrio (JONES et al., 1991) e o chumbo, em temperatura superior a 500 °C (CHRISTIAN, 1994).

2.6.2 O procedimento da via úmida

O método da via úmida é o mais bem aceito para dissolução de materiais vegetais, consistindo na destruição da matéria orgânica através da digestão ácida, em alta temperatura. Os ácidos oxidam a matéria orgânica a dióxido de carbono, água e outros compostos voláteis, que são eliminados, deixando apenas os sais ou ácidos dos constituintes inorgânicos (CHRISTIAN, 1994).

A combinação de um ácido oxidante e outro agente oxidante tem sido bastante empregada, pois o segundo potencializa o poder de oxidação do ácido. Em geral se emprega o peróxido de hidrogênio como oxidante devido ao seu alto poder de oxidação e ao seu alto grau de pureza, resultando em baixos valores das amostras em branco. Além disso, o produto final da sua decomposição é a água. A mistura entre o ácido perclórico e a água oxigenada é também empregada para amostras de plantas (CLÉMENT, 1995), nas quais a água oxigenada é utilizada na pré-digestão (ABREU, 1997).

O processo de digestão sob pressão em frascos selados é uma técnica amplamente usada e foi introduzida por Carius em 1860 (KINGSTON & JASSIE, 1988). As vantagens mais interessantes dos processos selados são: a) os elementos voláteis ficam retidos na solução; b) não há evaporação de ácidos, o que permite a utilização de pequenos volumes; c) não há vazamentos de fumos ácidos durante o

processo; d) não há contaminação externa; e) requer monitoramento menos rigoroso e f) por estar sob pressão, pode-se alcançar temperaturas tão altas como 300°C (ABREU, 1997). O procedimento também apresenta desvantagens. Dentre essas, tem-se que a quantidade de amostra não pode ser superior a 0,5 g, dificultando a análise de elementos presentes em baixas concentrações. Tal digestão é usualmente lenta, ou seja, não é mais rápida que o procedimento convencional (ABREU, 1997).

Com o desenvolvimento da tecnologia de microondas tem havido um crescente interesse na utilização desse princípio como fonte de aquecimento alternativa na abertura de amostras. Os resultados têm-se mostrado equivalentes ou melhores que os métodos tradicionais (JASSIE e KINGSTON, 1988).

ABREU (1997) obteve para a maioria dos elementos analisados pelo método da via seca resultados estatisticamente diferentes ao nível de 5%. Para o elemento chumbo os resultados foram discrepantes. O emprego do forno de microondas no processo de via úmida apresentou uma melhor reprodutibilidade dos resultados e praticamente todos os resultados foram aceitos no Programa IPE (International Plant Exchange Programme).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Condições Ambientais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada nas dependências do Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em Campinas, SP, com as seguintes coordenadas geográficas: 22° 49' 45'' S, 47° 06' 33'' W e altitude média de 670 m, sob condições de luz e temperatura naturais, no período de 23 de agosto a 9 de outubro de 2006.

3.2 Espécie Vegetal Cultivada

A espécie vegetal escolhida para o experimento foi a leguminosa comercial herbácea, *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. (feijão-de-porco). As sementes da leguminosa foram obtidas no Instituto Agrônômico (IAC).

3.3 Tratamentos

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 2 X 4, sendo dois tratamentos, com e sem inoculação de estirpe de rizóbio, quatro soluções contendo as seguintes concentrações de Pb 0; 250; 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Para cada tratamento foram feitas cinco repetições.

Utilizou-se a solução de Hoagland e Arnon (1939) modificada, contendo ou não N mineral e com adição ou não de Pb na forma de acetato de chumbo ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (Anexos 1 e 2).

3.4 Desenvolvimento do Experimento

As sementes das espécies de leguminosas *Canavalia ensiformis* (L.) D.C., previamente desinfetadas com hipoclorito de sódio comercial a 1% por 5 minutos e lavadas com água destilada, foram colocadas para germinar em bandejas plásticas contendo areia lavada e esterilizada em autoclave a 121°C por 50 minutos.

Após a emissão da folha primária, as plântulas foram retiradas das bandejas e transferidas para vasos com capacidade de 2 L, contendo areia esterelizada como substrato, onde permaneceram até o momento da coleta. Durante transplântio metade das plantas foi inoculada com suspensão de estirpe de bactérias do gênero *Rhizobium*.

Para obtenção da suspensão de rizóbios, parte da cultura mantida em meio sólido (tubos “estoque” em meio sólido, conservados em geladeira) foi transferida para erlenmeyers contendo meio de cultura “79” líquido (FRED & WASKMAN, 1928). Os frascos foram colocados no escuro sob agitação constante (agitador Mod. NT712, Nova Técnica). Após 2 ou 3 dias de crescimento a suspensão de rizóbio foi utilizada, após determinação do número de células viáveis na cultura de rizóbio (unidades formadoras de colônias - UFCs) (HUNGRIA & ARAÚJO, 1994). Esse método consiste em semear diferentes diluições de uma suspensão de *Rhizobium* na superfície de meio sólido, até obter uma contagem de colônias dispersas e isoladas, neste caso, de aproximadamente 10^8 células/mL de meio líquido. Todos os procedimentos microbiológicos foram realizados em câmara asséptica de fluxo laminar (Veco). No tratamento sem rizóbio as sementes de feijão-de-porco foram embebidas apenas em água destilada.

As plantas foram regadas uma vez por semana com 100 mL de solução nutritiva de Hoagland modificada (Anexo 1). Nos tratamentos com rizóbio, as plantas receberam solução nutritiva sem acréscimo de nitrogênio (Anexo 2).

O Pb foi colocado no primeiro dia do transplântio nas concentrações de 0, 250, 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, na forma de $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ diluído em solução nutritiva de Hoagland. Quando necessário, regou-se as plantas com água de torneira.

As plantas permaneceram nos vasos até o momento da coleta, que ocorreu em três diferentes datas, 14, 22 e 27 dias após a aplicação de Pb.

3.5 Medidas de Crescimento

Todas as medidas de crescimento foram realizadas no final do experimento. As medidas da altura e do número de folhas foram feitas antes da separação das plantas em lâminas foliares, caule+pecíolos, raízes.

As medidas de área foliares foram feitas através do equipamento Model L. I 3.100 – Area meter – SR n° LAM 1018, Licor – USA. Todo material foi colocado em estufa com circulação forçada de ar para secagem a 60°C por 72 horas. A seguir, as amostras foram pesadas para obter a matéria seca e depois foram moídas em moinho tipo Wiley, passadas em peneira de abertura de 1mm de malha (BATAGLIA et al., 1983), homogeneizadas e acondicionadas em frascos de vidro e submetidas à análise química para a determinação de Pb.

3.6 Análise química

Foram testadas duas metodologias para a digestão das plantas, a via seca (método de rotina do laboratório do Centro de Solos e Recursos Ambientais do IAC) e o método por via úmida com aquecimento por microondas. Para validação de cada método foram utilizadas cinco amostras com teores certificados de referência para o Pb, provenientes de um Ensaio de Proficiência da Holanda para amostras de plantas (IPE – International Plant Exchange Programme). As amostras IPE foram: 156-folha de carvalho, 100-graminea, 162-folha de urtiga, 153-graminea, 164-crisântemo, 159-alfafa, 885-milho.

Para a digestão das partes das plantas (raiz, caule e folhas), foram testados os métodos de via úmida com aquecimento por microondas e de via seca, e a determinação do Pb foi feita por espectrometria de emissão óptica em plasma de argônio (ICP-OES).

Para a digestão das amostras por via úmida com aquecimento por microondas, nas plantas, pesaram-se 500 mg (com precisão de 1 mg), do material seco e moído e colocados em tubos especiais de teflon PFA (perfluoro alquóxi etileno), para digestão. Após isso, as amostras foram digeridas com a mistura de 5 mL de ácido nítrico (70%) e 3 mL de peróxido de hidrogênio (30%) em forno de microondas especial (marca CEM-Mars-Xpress). A programação do aparelho para a digestão é descrita na tabela 1. Após a digestão no forno de microondas, as amostras foram filtradas em papel filtro quantitativo (marca Nalgon, diâmetro 11 cm, filtragem lenta – cinza 0,00007 g) em balão volumétrico de 25 mL e o volume final completado com água deionizada.

Tabela 1 - Programação do forno de microondas especial (CEM-Mars-Xpress).

Estágio	Potência W	Tempo min	Temperatura °C	Espera min
1	1200	15	200	5
2	1200	1	210	5
3	1200	1	220	5

Para o método da via seca, foi pesado 1 g (com precisão de 1 mg) do material vegetal seco e moído. Em seguida, as amostras foram colocadas em mufla a 500°C por duas horas e meia para incineração. Após o resfriamento, adicionaram-se 2 mL de ácido clorídrico 6 mol L⁻¹. As amostras foram colocadas na chapa elétrica a 50°C por uma hora e meia, até ocorrer a evaporação. Adicionaram-se mais 10 mL de ácido clorídrico 2 mol L⁻¹ e aqueceu-se por mais 5 min. Foram realizadas duas filtrações que foram feitas em papel de filtragem rápida faixa preta, sendo que entre uma e outra, mais 10 mL do ácido nítrico 2 mol L⁻¹ foram adicionados. Os balões volumétricos utilizados foram completados com água deionizada para o volume de 25 mL, baseado em ABREU (1997) modificado.

3.7 Determinação de nitrogênio

A determinação do nitrogênio só foi feita para a parte aérea, pois os tecidos da raiz não foram suficientes para outras medidas além da determinação de Pb.

Transferiu-se para tubos de digestão (tipo Folin-Wu), 0,5 g (\pm 1 mg) de material vegetal seco e moído (folhas); 1 g de mistura digestora (1000 g de K_2SO_4 + 100 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ + 10 g de Se) e 4 mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram colocados em um bloco digestor e aquecidos lentamente até a temperatura de 360°C, onde as amostras foram digeridas ao ponto de ebulição da mistura, até a obtenção de um extrato azulado. Após esse ponto, deixou-se em ebulição por mais 60 minutos. Os tubos foram resfriados a temperatura ambiente e ao conteúdo adicionaram-se 5 mL de água deionizada. O conteúdo de cada tubo foi usado na dosagem de nitrogênio, segundo o método de destilação Kjeldahl (BREMNER, 1965; ABREU et al., 2006).

3.8 Cálculo do Índice de Translocação

O índice de translocação (IT) foi calculado baseado na quantidade acumulada de Pb na planta, de acordo com ABICHEQUER & BOHNEN (1998), pela seguinte equação:

$$IT = \frac{\text{Quantidade de Pb acumulada na parte aérea}}{\text{Quantidade de Pb acumulada na planta}} \times 100$$

3.9 Cálculo do Índice de Produção Relativa

O índice de produção relativa, que traduz a influência do metal na variação de produção de matéria seca da planta, foi calculado segundo a equação:

$$PR\% = \frac{\text{matéria seca produzida com a dose do metal}}{\text{matéria seca produzida na ausência do metal}} \times 100$$

3.10 Delineamento Experimental e Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, cada vaso constituiu uma parcela, sendo 5 repetições para cada tratamento.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e quando houve diferença estatística, foram realizadas análises de regressão polinomial (linear e quadrática) para a comparação entre os níveis de concentração de Pb e teste de Tukey .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento de *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. na presença de Pb

A presença de MPs no solo pode estimular uma série de alterações fisiológicas nas plantas, podendo provocar deficiência ou excesso de determinados nutrientes na parte aérea, o que prejudica o desenvolvimento e o crescimento normal dessas plantas (ROMEIRO, 2005).

Nas plantas de feijão-de-porco não se observaram sintomas de fitotoxicidade. No geral, as plantas com tratamento sem rizóbio (S/R) se desenvolveram melhor que as plantas com tratamento com rizóbio (C/R). Isso pode ser explicado pelo fato de as plantas S/R terem recebido dose extra de nitrogênio. Nas plantas do tratamento C/R não ocorreu nodulação, portanto tiveram menor quantidade de nitrogênio disponível quando comparadas com as plantas do tratamento S/R. Ao longo de todo experimento, as plantas C/R apresentaram uma coloração verde mais clara quando comparadas com as do S/R, indicando uma possível falta de nitrogênio. Contudo, essa possível falta de nitrogênio não limitou o crescimento e o desenvolvimento das plantas de feijão-de-porco.

4.2 Medidas das Alturas

Nas medidas de altura do tratamento S/R observou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas do crescimento de plantas com 14 dias após a aplicação de Pb, em função do aumento das concentrações do Pb (figura 1-A). No tratamento C/R observou-se um pequeno aumento no crescimento até a dose $500 \mu\text{mol L}^{-1}$, em relação à

testemunha (figura 1-B). Porém, a partir da dose 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ o crescimento começou a diminuir.

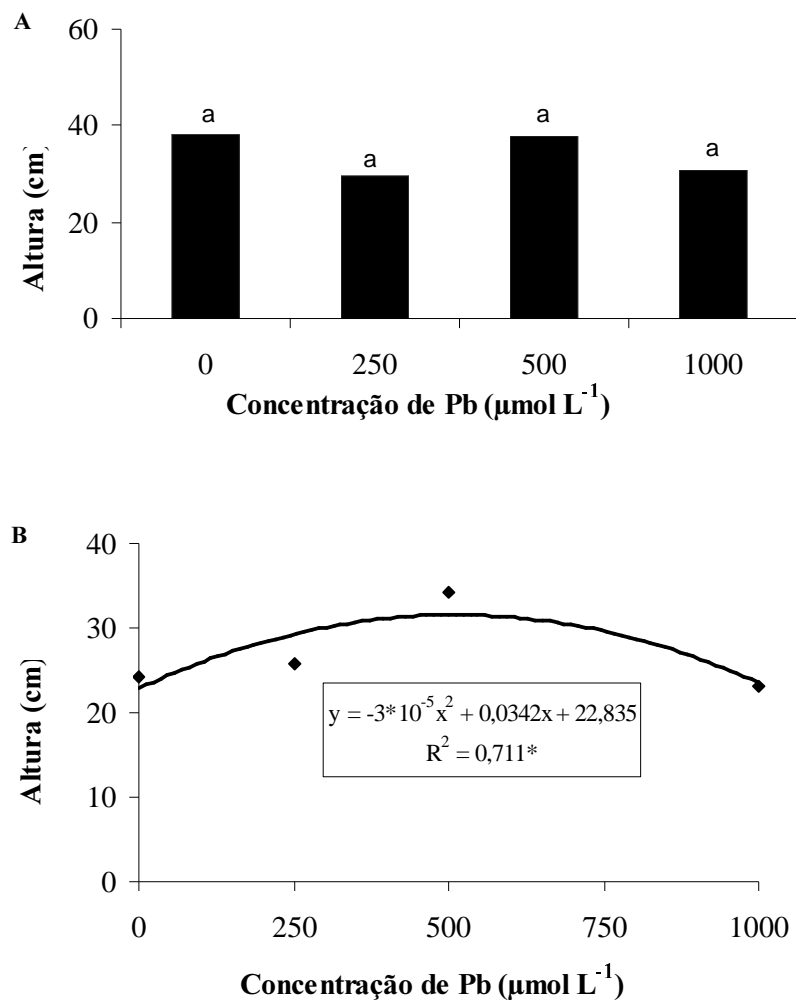


Figura 1 – Altura de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B) submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. * Significativo a 5%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos S/R e C/R em cada concentração de Pb.

Nas medidas de altura de plantas com 22 e com 27 dias após a aplicação de Pb, não houve diferenças estatisticamente significativas do crescimento em função do aumento das concentrações de Pb (figuras 2-A e 2-B). As plantas S/R e C/R não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si.

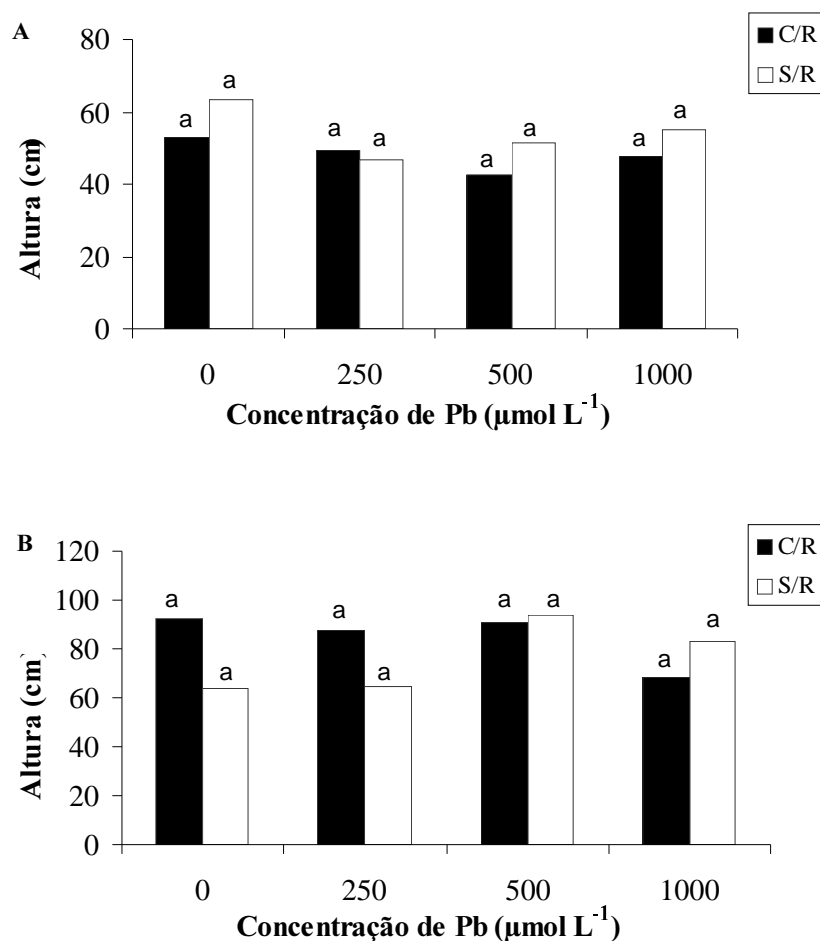


Figura 2 – Altura de plantas de feijão-de-porco, com 22 dias (A) e 27 dias (B) após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos de inoculação em cada concentração de Pb.

Espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado por MPs têm seu crescimento prejudicado (MARQUES et al., 2000). Segundo KÄRENLAMPI et al. (2000), o Pb pode acarretar mudanças nos processos biológicos como respiração, atividade enzimática e crescimento.

Em experimento com feijão-de-porco, ROMEIRO (2005) obteve 35 cm como média de altura na ausência da aplicação de Pb e 15 cm na dose $400 \mu\text{mol L}^{-1}$, em medições feitas após um mês de plantio das plântulas em vasos.

No presente experimento, com o mesmo tempo de exposição ao chumbo, as plantas apresentaram, no tratamento S/R e sem Pb altura média de 60 cm e no tratamento C/R, altura média de 90 cm. Na dose $500 \mu\text{mol L}^{-1}$, os tratamentos S/R e C/R

apresentaram média de 90 cm de altura. Mesmo recebendo a dose mais alta de chumbo ($1000 \mu\text{mol L}^{-1}$), as plantas continuaram a se desenvolver e não apresentaram sintomas de fitotoxicidade. O crescimento foi similar ao em doses menores, mostrando então que não houve relação entre concentração de Pb e altura das plantas.

Plantas de *Carex rostrata*, *Eriophorum angustifolium* e *Phragmites australis* não apresentaram modificação no crescimento na presença de Pb (STOLTZ e GREGER, 2002), resultados semelhantes aos encontrados neste experimento.

4.3 Número de Folhas

No número de folhas observou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas em função do aumento das concentrações de Pb em todos os dias analisados (figuras 3-A, 3-B e 3-C). As plantas S/R e C/R não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si.

ROMEIRO (2005), em experimento com feijão-de-porco observou que a partir da dose $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ houve queda do número de folhas. Segundo PUNZ & SIEGHARDT (1993), algumas plantas apresentam murchamento e posterior queda da folha, quando submetidas a altas concentrações de Pb. Contudo, neste experimento isso não ocorreu, o número de folhas continuou constante à medida que se aumentava a dose de Pb. Não se observaram sintomas de fitotoxicidade como murchamento, amarelamento das folhas, clorose, necrose e queda.

4.4 Área Foliar

Na área foliar das plantas do tratamento S/R, 14 dias após a aplicação de Pb observou-se que à medida que as concentrações de Pb aumentaram a área foliar diminuiu ($r^2=0,99$) (figura 4-A), evidenciando a influencia do Pb no desenvolvimento das folhas de feijão-de-porco. No entanto, nas plantas C/R, não houve diferenças estatisticamente significativas do crescimento em função da presença do Pb (figura 4-B).

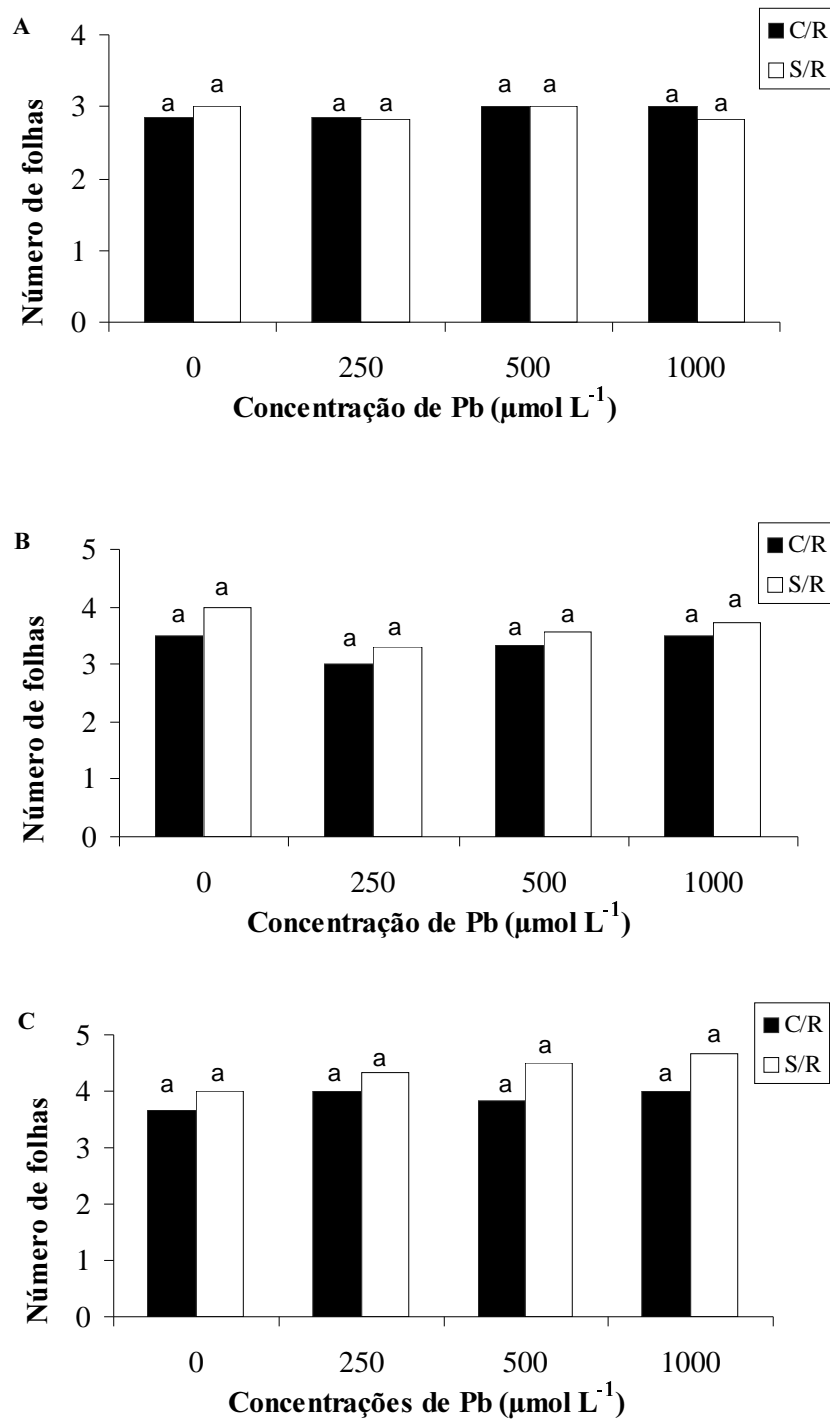


Figura 3 – Número de folhas de plantas de feijão-de-porco com 14 (A), 22 (B) e 27 (C) dias após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos, teste Tukey a 5%, comparando entre tratamentos de inoculação em cada concentração de Pb.

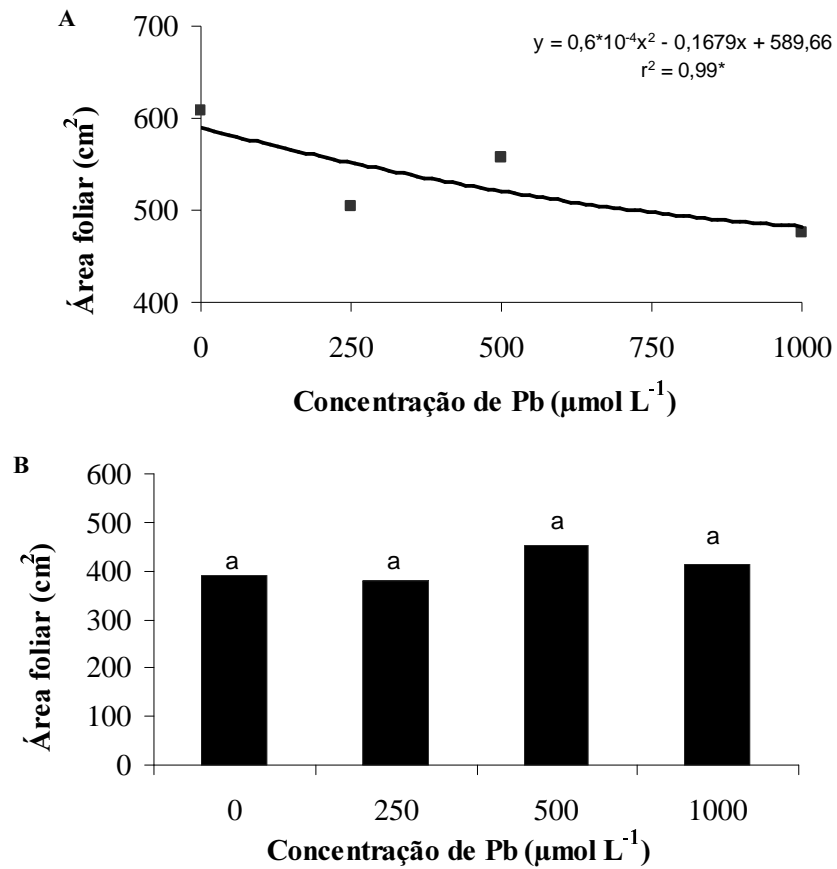


Figura 4 – Área foliar de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. * Significativo a 5%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos, teste Tukey a 5%, comparando entre tratamentos de inoculação em cada concentração de Pb.

Na área foliar das plantas com 22 dias após a aplicação do Pb em todas as concentrações de Pb foram verificadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos S/R e C/R (figura 5-A), porém não houve diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações do mesmo tratamento. O tratamento S/R obteve as maiores medidas de área foliar quando comparado com o tratamento C/R.

Na figura 5-B, em plantas com 27 dias após a aplicação de Pb, os tratamentos S/R e C/R apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si nas doses 0, 500 e 1000 µmol L⁻¹.

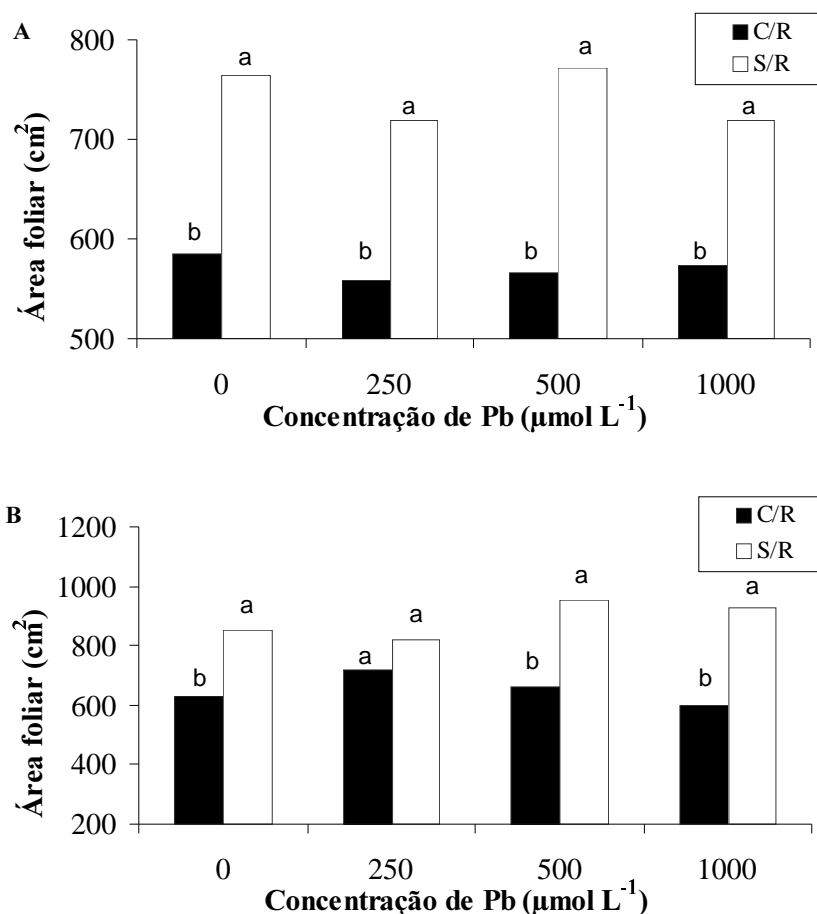


Figura 5 – Área foliar de plantas de feijão-de-porco, com 22 dias (A) e 27 dias (B), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos, teste Tukey a 5%, comparando entre tratamentos de inoculação em cada concentração de Pb.

A diminuição na área foliar tem sido considerada um dos efeitos mais significativos da deficiência do nitrogênio (VOS & VAN DER PUTTEN, 1998). Neste experimento, observou-se menor área foliar nas plantas C/R e isso pode ser devido a essas plantas não terem recebido dose extra de nitrogênio. Apesar de as plantas terem recebido inóculo de rizóbio não ocorreu nodulação.

Já nas plantas S/R deve ter ocorrido o inverso, pois apresentaram maiores medidas de área foliar e, apesar de não terem recebido inóculo de bactérias, elas receberam dose extra de nitrogênio.

Plantas de mamão cultivadas sob deficiência de nitrogênio reduziram a área de interceptação da energia solar incidente, minimizando a redução da concentração de nitrogênio foliar. Com essa estratégia, essas plantas conseguem minimizar o efeito

negativo sobre a capacidade fotossintética por unidade de área foliar, evidenciado pela pequena redução da taxa fotossintética (18,2%). Estratégia semelhante é utilizada por plantas de batata (VOS & VAN DER PUTTEN, 1998). Em milho, a prioridade é minimizar reduções na área foliar e na interceptação de luz, em detrimento da concentração de nitrogênio foliar, ocasionando maior redução da atividade fotossintética por unidade de área (VOS et al., 2005).

4.5 Produção de Matéria Seca

Na figura 6-A, que compara a matéria seca das raízes de plantas expostas por 14 dias ao Pb, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos de inoculação. Na figura 6-B, que compara a matéria seca do caule em plantas expostas por 14 dias ao Pb observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos de inoculação nas doses 0 e 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O tratamento S/R resultou nas maiores medidas de matéria seca quando comparado com o tratamento C/R.

Na figura 6-C, que compara matéria seca de folhas em plantas expostas por 14 dias ao Pb observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos nas parcelas que não receberam Pb. O tratamento S/R obteve as maiores medidas de massa seca quando comparado com o tratamento C/R.

A matéria seca das raízes evidenciou sinais claros de toxicidade, as raízes apresentaram atrofia e escurecimento.

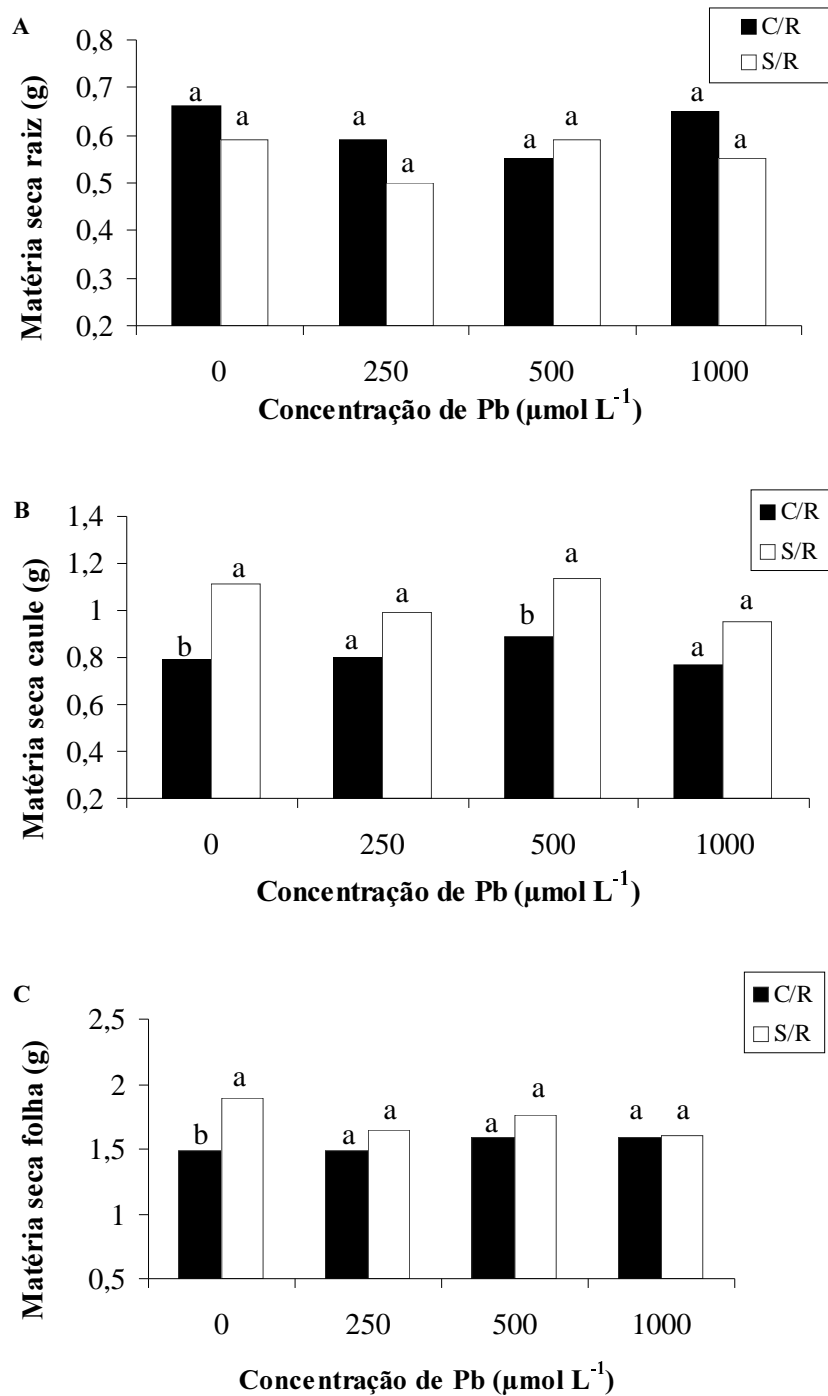


Figura 6 – Matéria seca de plantas de feijão-de-porco, raiz (A), caule (B) e folha (C), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos de inoculação em cada concentração de Pb.

Na figura 7-A, que compara a matéria seca das raízes de plantas expostas por 22 dias ao Pb não houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos de inoculação. Na figura 7-B, que compara a matéria seca do caule em plantas expostas por 22 dias ao Pb observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos nas doses 0 e 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O tratamento S/R obteve as maiores medidas de matéria seca quando comparado com o tratamento C/R.

Na matéria seca das folhas de plantas expostas por 22 dias ao Pb não observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos na ausência de aplicação de Pb (figura 7-C). O tratamento S/R resultou nas maiores medidas de massa seca quando comparado com o tratamento C/R.

Na matéria seca de raízes (figura 8-A) e caule (figura 8-B) de plantas expostas por 27 dias ao Pb observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos na dose 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Na figura 8-C, que compara a matéria de folhas de plantas expostas por 27 dias ao Pb observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos nas doses 0, 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O tratamento S/R propiciou as maiores medidas de matéria seca quando comparado com o tratamento C/R.

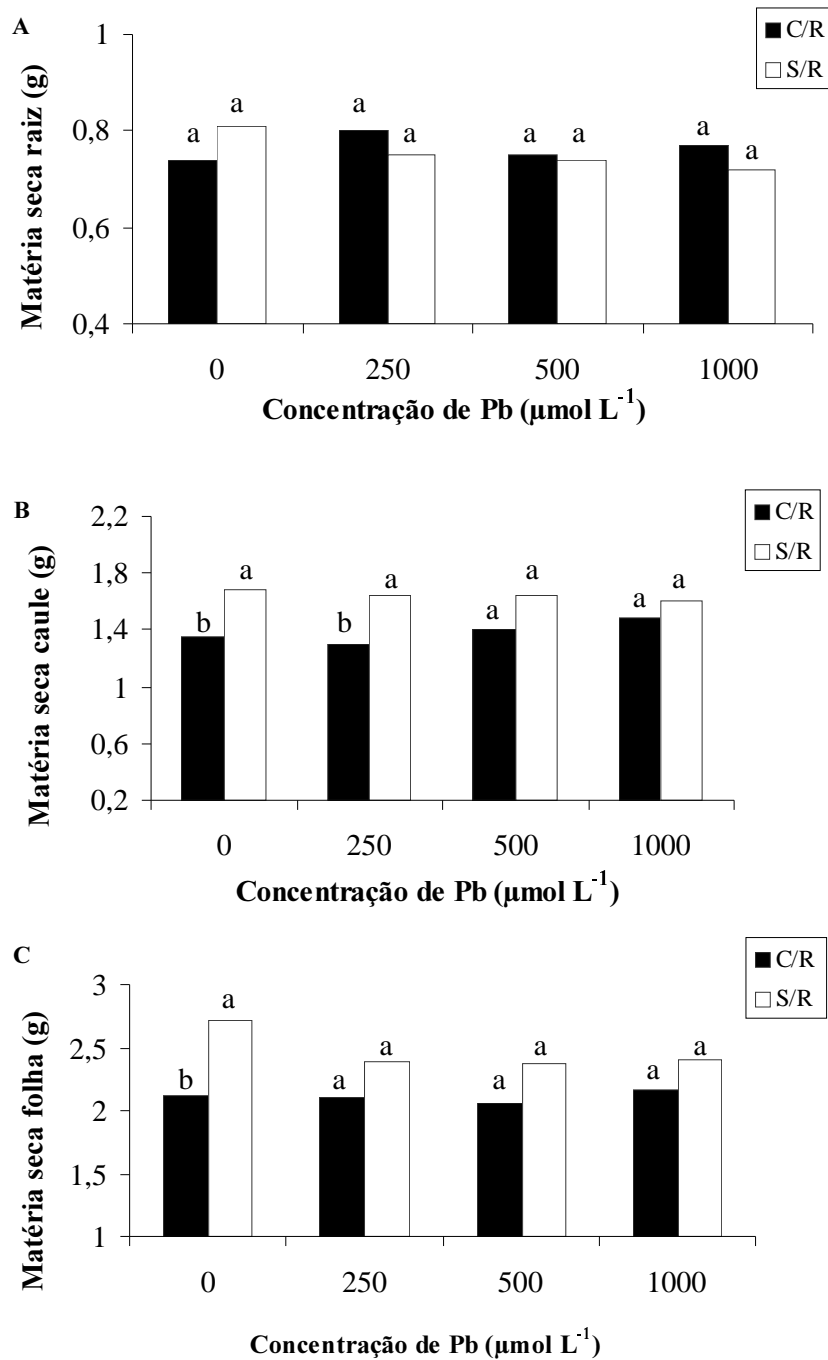


Figura 7 – Matéria seca de plantas de feijão-de-porco, raiz (A), caule (B) e folha (C), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos de inoculação em cada concentração de Pb.

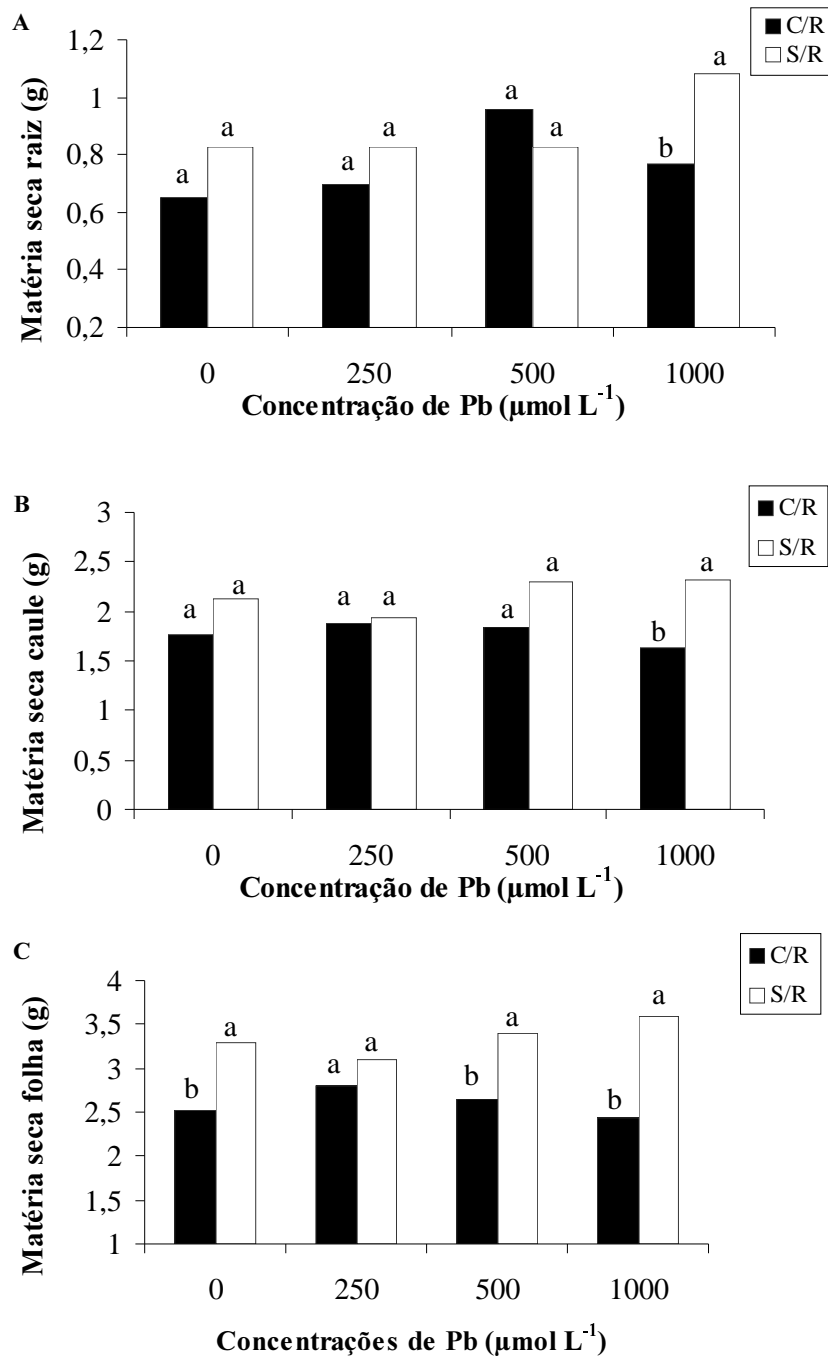


Figura 8 – Matéria seca de plantas de feijão-de-porco, raiz (A), caule (B) e folha (C), após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 27 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%, comparando-se entre os tratamentos de inoculação em cada concentração de Pb.

Segundo PAIVA et al. (2000), em experimento com aplicações de doses crescentes de 0, 49, 96, 192 e 288 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de acetato de chumbo ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, pH 5,5, verificou-se que a menor dose aplicada (49 $\mu\text{mol L}^{-1}$) reduziu 32% a matéria seca da parte aérea das mudas de cedro e 24% das mudas de ipê-roxo. Já a maior dose aplicada (288 $\mu\text{mol L}^{-1}$), reduziu 77% a matéria seca das mudas de cedro e 79% das mudas de ipê-roxo.

No geral, as medidas de matéria seca das plantas do tratamento C/R foram menores que as do tratamento S/R. Isso se evidenciou principalmente nos tecidos caule e folha. Novamente o nitrogênio se mostra como um dos principais nutrientes a limitar o crescimento e a produtividade dos vegetais (EVANS, 1989).

O índice de produção relativa foi alto, demonstrando que o Pb afetou pouco a produção de matéria seca (Tabela 2). Os maiores índices foram obtidos nas doses 500 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ dos tratamentos C/R 14 e 22 dias após a aplicação de Pb e no tratamento S/R 27 dias após a aplicação de Pb. A matéria verde produzida foi alta, não houve um grande impacto do Pb no desenvolvimento das plantas, evidenciando a possibilidade de uso do feijão-de-porco como planta fitoextratora.

Tabela 2 – Índice de produção relativa em plantas de feijão-de-porco, expostas por 14, 22 e 27 ao chumbo.

Concentração (Pb)	14 dias		22 dias		27 dias	
	C/R	S/R	C/R	S/R	C/R	S/R
$\mu\text{mol L}^{-1}$	%	%	%	%	%	%
250	97,95	87,46	99,76	92,11	100	93
500	100	97,2	100	91,53	97	100
1000	100	86,35	100	90,96	97	100

4.6 Métodos de Análise de Planta

Diante de dois métodos utilizados para análise de plantas, foi feito um teste com amostras certificadas, que apresentavam teor de referência para o chumbo, a fim de determinar o melhor procedimento analítico a ser utilizado. A tabela 3 mostra que o método microondas apresenta os menores valores de porcentagem entre o teor de referência e o teor observado, além de ser uma metodologia com melhor

reprodutibilidade, ou seja, menor desvio padrão entre as replicatas. Desta forma, optou-se por empregar o método de digestão usando aquecimento por microondas para quantificar o teor de chumbo nas amostras de planta deste experimento.

Tabela 3 – Comparação entre os métodos de via seca e microondas em diferentes materiais com valores de referência para o Pb.

Amostra	Material	Valor de referência (Pb)	Métodos					
			Via seca			Microondas		
			Média	Desvio	% *	Média	Desvio	% *
		mg/kg	mg/kg		% *	mg/kg		% *
1	Folha de Carvalho	3,71	2,22	0,05	-40	3,59	0,01	-3
2	Graminea	1,19	0,88	0,07	-26	1,17	0,01	-1
3	Folha de Urtiga	1,16	0,91	0,09	-21	1,14	0,01	-2
4	Graminea	4,2	2,88	0,87	-31	4,04	0,06	-4
5	Crisântemos	1,38	1,21	0,12	-12	1,38	0,01	0
6	Alfafa	1,51	1,15	0,04	-24	1,49	0,01	-1
7	Milho	2,9	2,57	0,09	-11	2,88	0,01	-0,6
8	Graminea	1,17	0,99	0,04	-15	1,16	0,01	-0,8

* % da diferença entre o valor de referência e o valor observado

4.7 Conteúdo de Pb na raiz

No conteúdo de Pb em raízes do tratamento S/R de plantas expostas por 14 dias ao Pb observou-se aumento linear do conteúdo de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 9-A). Já o tratamento C/R de plantas expostas por 14 dias ao Pb observou-se aumento quadrático do conteúdo de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 9-B).

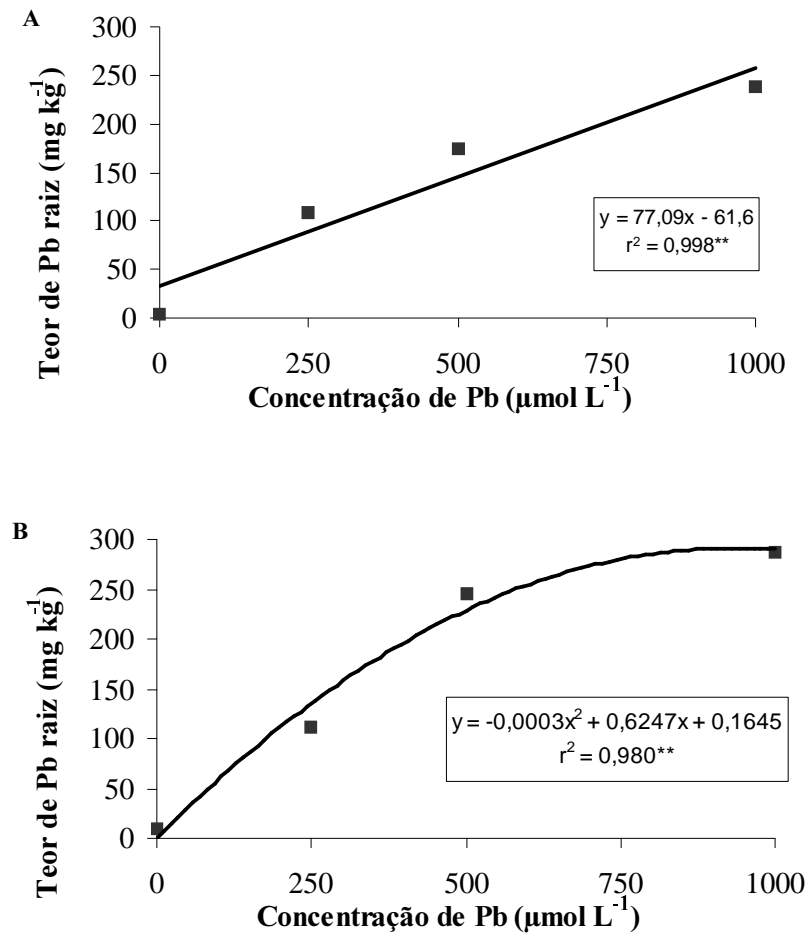


Figura 9 – Teor de chumbo nas raízes de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. ** Significativo a 1%.

No conteúdo de Pb em raízes de plantas do tratamento S/R expostas por 22 dias ao Pb observou-se aumento linear do conteúdo de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 10-A). Já o tratamento C/R de plantas expostas à 22 dias ao Pb observou-se aumento quadrático do conteúdo de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 10-B).

O conteúdo de Pb em raízes de plantas do tratamento S/R e C/R expostas por 27 dias ao Pb observou-se aumento quadrático do conteúdo de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução (figuras 11-A e 11-B).

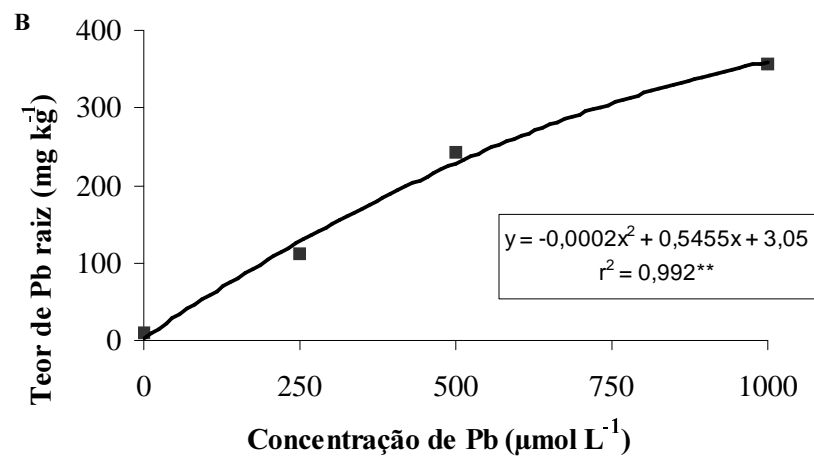
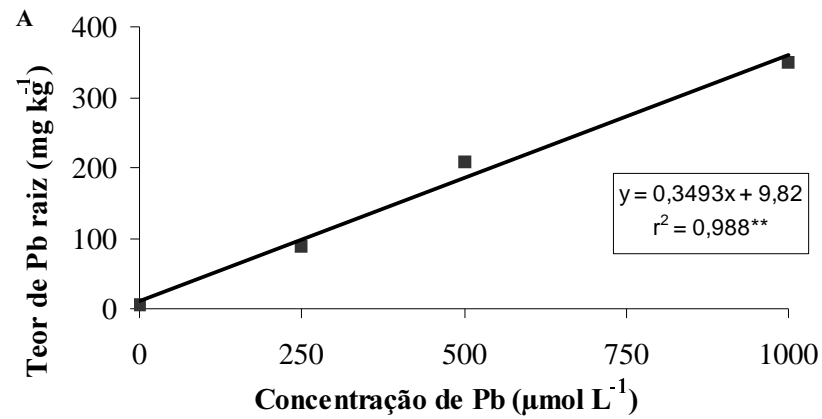


Figura 10 – Teor de chumbo nas raízes de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. ** Significativo a 1%.

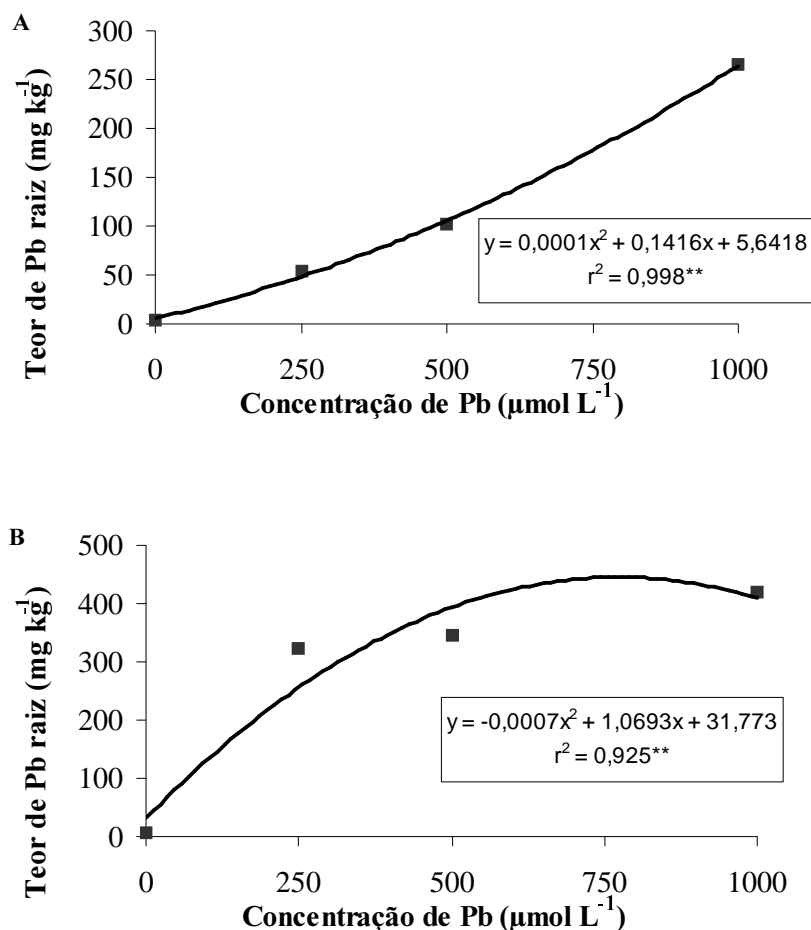


Figura 11 – Teor de chumbo nas raízes de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 27 dias. ** Significativo a 1%.

Nas raízes do tratamento S/R podemos observar que 14 e 22 dias após a aplicação de chumbo o teor de Pb nas plantas de feijão-de-porco foi aumentando linearmente, contudo 27 dias após a aplicação de chumbo o aumento no teor de Pb foi quadrático.

Nas raízes do tratamento C/R podemos observar que 14 e 22 dias após a aplicação de chumbo, o teor de Pb nas plantas de feijão-de-porco teve um aumento quadrático, contudo 27 dias após a aplicação de chumbo o teor de Pb começou a declinar a partir da dose 1000 μmol L⁻¹.

Alguns tratamentos apresentaram aumento linear e outros tratamentos aumento quadrático, contudo, a tendência será sempre quadrática porque o teor de chumbo na

planta terá um ápice e posterior queda. O feijão-de-porco apresentou potencial de fitoextrator pois mesmo na dose de $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ não houve sintomas de fitotoxicidade.

4.8 Conteúdo de Pb na parte aérea

O conteúdo de Pb na parte aérea apresentou aumento quadrático em função do aumento na concentração de Pb na solução em ambos os tratamentos das plantas expostas por 14 dias ao Pb (figuras 12-A e 12-B).

No conteúdo de Pb na parte aérea de plantas S/R expostas por 22 dias observou-se aumento quadrático no teor de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 13-A). Já no tratamento C/R observou-se aumento linear no teor de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 13-B).

Na figura 14-A, que apresenta o conteúdo de Pb na parte aérea em plantas expostas por 22 dias ao Pb observou-se aumento linear no teor de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução. Na figura 14-B, que apresenta o conteúdo de Pb em plantas expostas por 22 dias ao Pb do tratamento C/R observou-se aumento quadrático no teor de Pb em função do aumento na concentração de Pb na solução.

Observou-se na figura 14-B, que a partir da dose $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$, o teor de Pb começou a estabilizar, sendo que quando as plantas de feijão de porco estavam expostas por 14 e 22 dias isso não estava ocorrendo, ao contrário, o teor de chumbo só estava aumentado. Se o experimento continuasse por mais dias, provavelmente o teor de chumbo na parte aérea tendesse a diminuir pois a planta atingiria sua capacidade máxima de fitoextração.

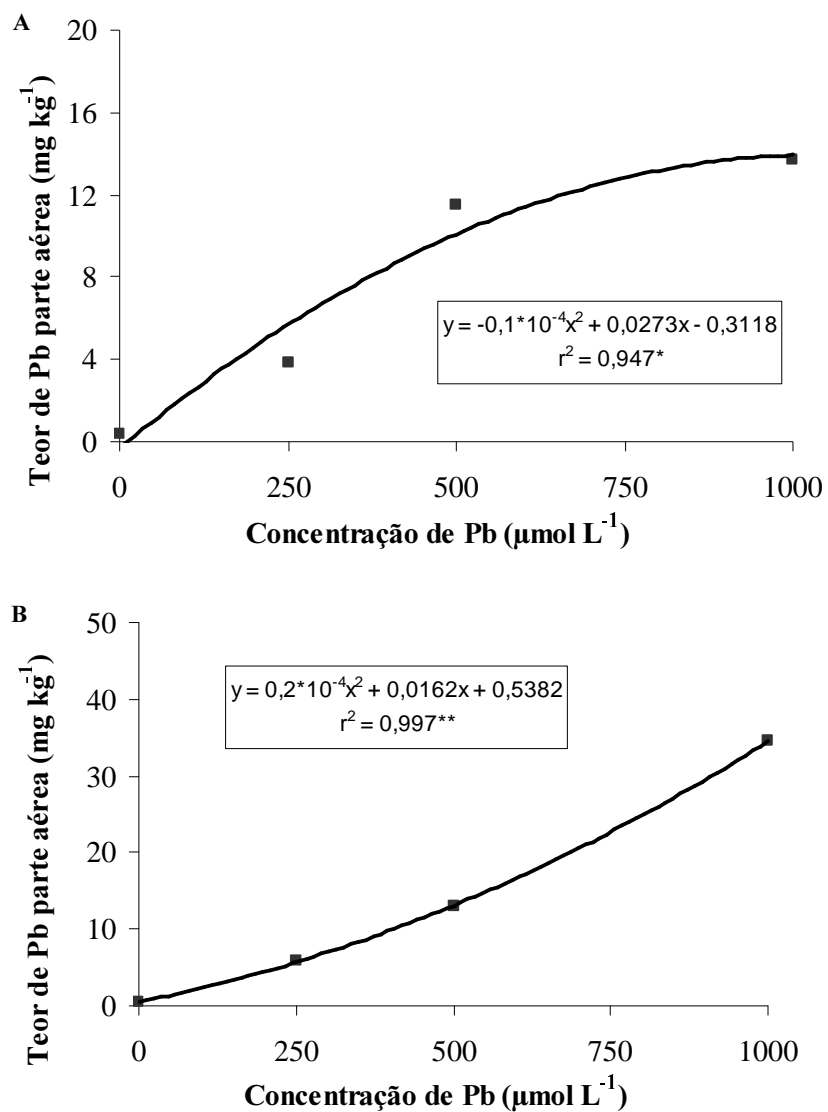


Figura 12 – Teor de chumbo na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. * Significativo a 5%, ** Significativo a 1%.

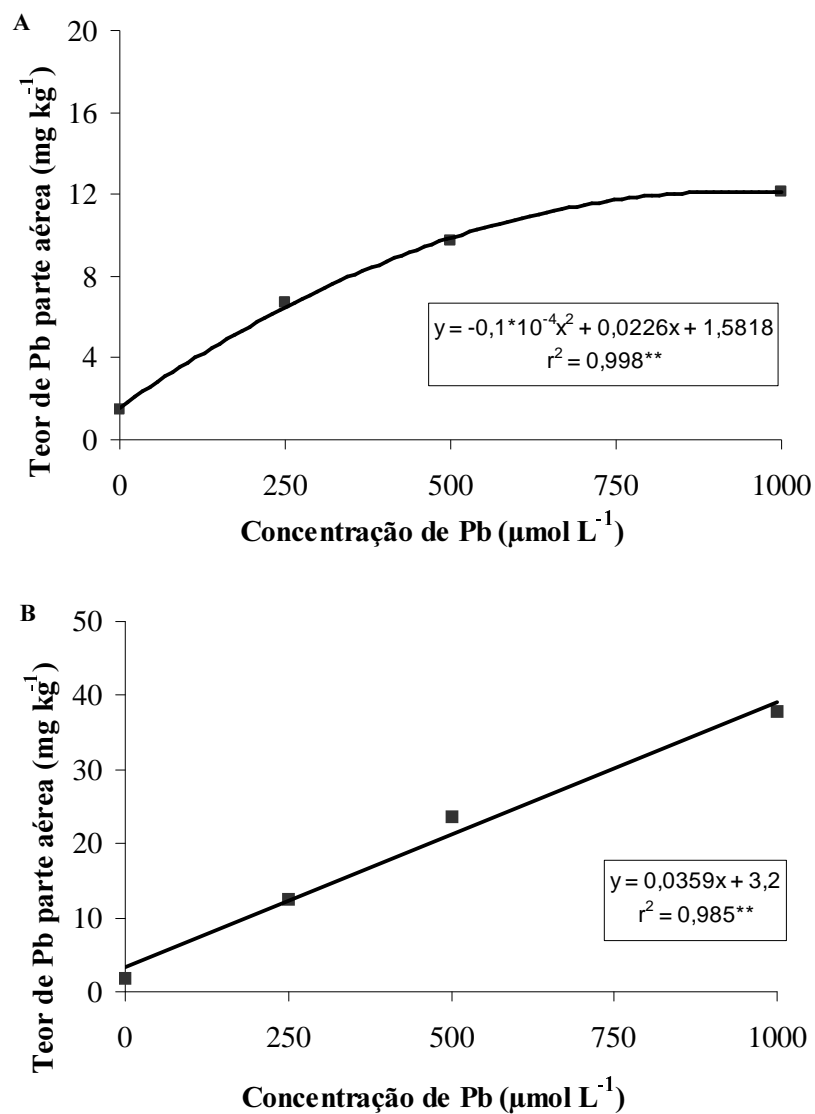


Figura 13 – Teor de chumbo na parte aérea de plantas de feijão-deporco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. * Significativo a 5%, ** Significativo a 1%.

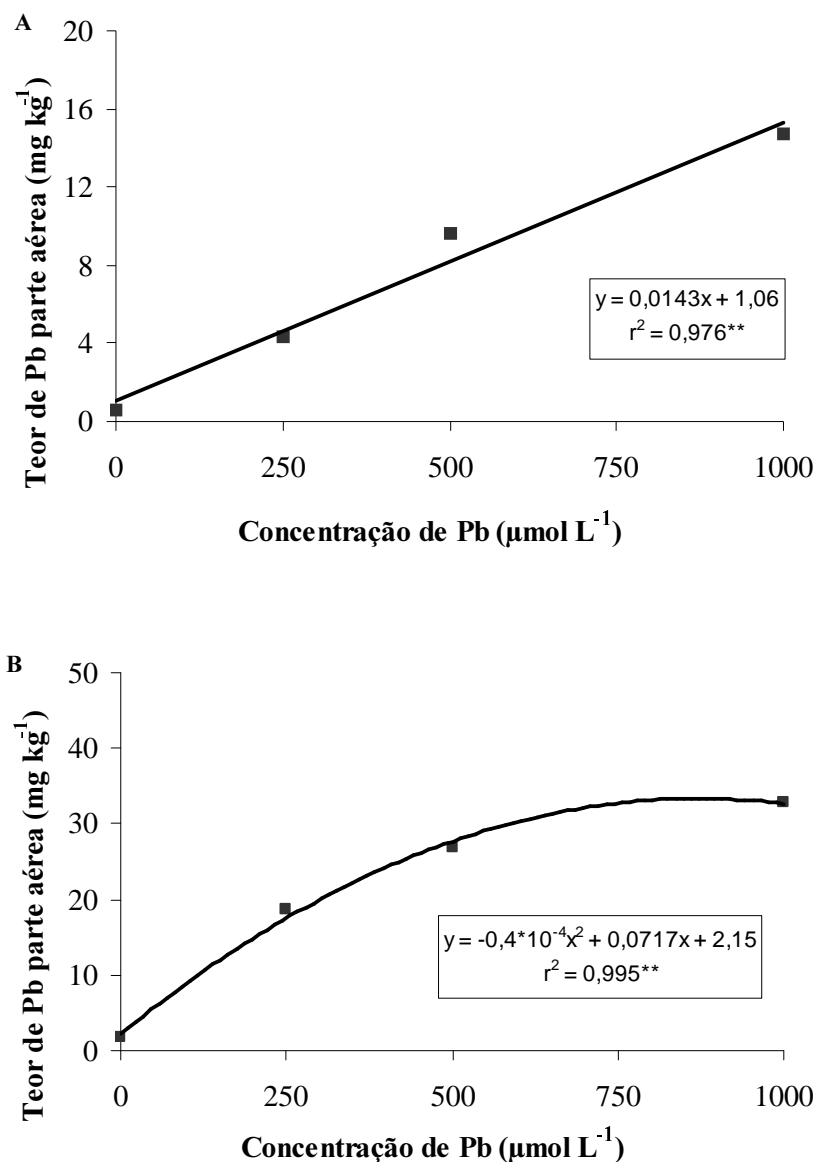


Figura 14 – Teor de chumbo na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 27 dias. ** Significativo a 1%.

Na parte aérea do tratamento S/R, podemos observar que, 14 e 22 dias após a aplicação de chumbo o teor de Pb nas plantas, houve um aumento quadrático, contudo 27 dias após a aplicação de chumbo, o teor de Pb foi linear e aumentou quando comparado com 14 e 22 dias após a aplicação de Pb.

Já na parte aérea do tratamento C/R, podemos observar que 14 dias após a aplicação de chumbo o teor de Pb nas plantas de feijão-de-porco teve um aumento

quadrático, 22 dias após a aplicação de Pb o aumento foi linear e 27 dias após a aplicação de chumbo o teor de Pb começou a declinar a partir da dose 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Segundo BHARTI & SINGH (1993) e KASTORI et al. (1998), as plantas que crescem em solução nutritiva apresentam absorção positivamente correlacionada com a dose de Pb aplicada. Essa correlação foi observada neste trabalho, pois, à medida que a dose de Pb aumentou, a concentração nos tecidos também aumentou.

Em raiz, caule e folha de gergelim, o acúmulo de Pb aumentou com as doses do metal, que variaram de 10 a 2.000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, mas esse acúmulo foi consideravelmente maior nas raízes que nas folhas das mudas, mostrando que ocorre baixa translocação do metal para as folhas (BHARTI & SINGH, 1993).

ROMEIRO (2005) constatou que nas doses 200 e 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$ o Pb promoveu, nas folhas mais velhas, clorose e posterior necrose, e, em alguns casos, a queda do órgão.

No presente trabalho, mesmo na dose mais alta (1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$), não se observaram sintomas de toxicidade, as folhas permaneceram com a mesma coloração.

À medida que as doses de chumbo aumentavam, as raízes foram escurecendo, engrossando e encurtando, confirmando resultados obtidos por diferentes autores (KASTORI et al., 1998; PAIVA et al., 2000). Segundo KASTORI et al. (1998), esses sintomas podem ocorrer pelo fato de o metal inibir a divisão e a diferenciação celular nas raízes. Esse confinamento nas raízes provoca distúrbios fisiológicos, impedindo ou dificultando o pleno desenvolvimento das plantas (PAIVA et al., 2000).

Experimento com *Brassica albograta* crescida em presença de Pb, a maior parte desse metal estava presente nas raízes (HORNG et al., 2002). WENZEL & JOCKWER (1999), relatam haver forte habilidade das raízes em reter quantidades de Pb, restringindo a translocação para a parte aérea. Em *Picea abies*, o teor de Pb nas raízes foi cerca de dez vezes maior que no caule.

VERKLEIJ & PRAST (1989) dizem que as espécies tolerantes ao Pb acumulam maiores concentrações desse MP nas raízes, mostrando que essas plantas não evitam a absorção do MP, mas limitam sua translocação para a parte aérea. Com feijão-de-porco, a parte aérea não apresentou nenhum sintoma de fitotoxicidade.

Segundo KABATA-PENDIAS & PENDIAS (1992), o valor máximo considerado normal de concentração de Pb na parte aérea é de 20 mg kg^{-1} . Neste experimento as quantidades de Pb na parte aérea não ultrapassaram esse valor.

O índice de translocação (IT) do Pb das plantas de feijão-de-porco foi extremamente baixo, demonstrando que o Pb teve baixa mobilidade para a parte aérea (tabela 4). Os maiores índices foram obtidos na dose 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ tratamento C/R 14 dias após a aplicação de Pb, seguido das doses 250 e 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ tratamento C/R 22 dias após a aplicação de Pb.

A média do IT demonstrou que os tratamentos C/R obtiveram as maiores porcentagens de translocação quando comparados com os tratamentos S/R. Esses dados reforçam a hipótese de que, embora não tenha ocorrido nodulação, a aplicação de rizóbio possivelmente favoreceu a entrada e translocação do Pb na planta.

Tabela 4 – Índice de translocação de Pb em plantas de feijão-de-porco, expostas por 14, 22 e 27 ao chumbo.

Concentração (Pb)	14 dias		22 dias		27 dias	
	C/R	S/R	C/R	S/R	C/R	S/R
$\mu\text{mol L}^{-1}$	%	%	%	%	%	%
250	4,92	3,40	10,17	7,10	5,50	7,44
500	5,02	6,20	8,94	4,44	7,22	8,63
1000	10,74	5,43	9,57	3,35	7,28	5,27

4.9 Nitrogênio na parte aérea

No teor de nitrogênio na parte aérea do tratamento S/R de plantas expostas por 14 dias ao Pb observou-se diminuição linear no teor de nitrogênio em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 15-A). No tratamento C/R observou-se que as plantas não apresentaram diferenças estatísticas significativas em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 15-B).

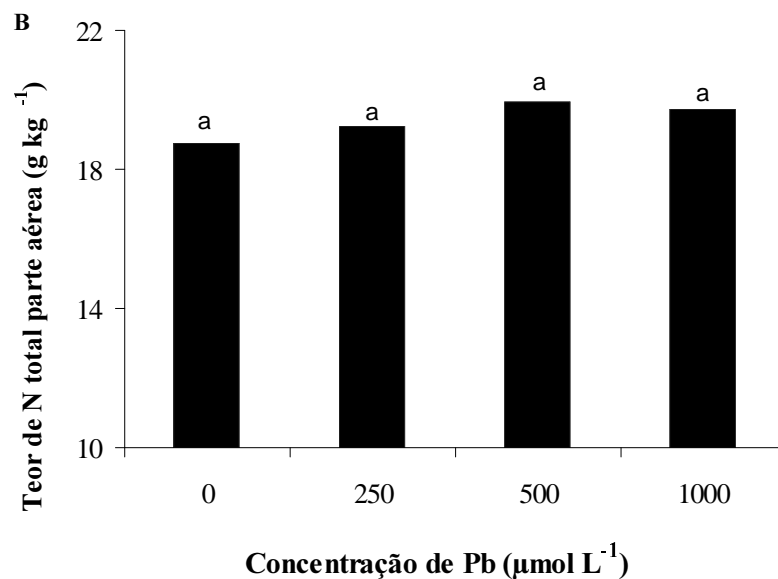
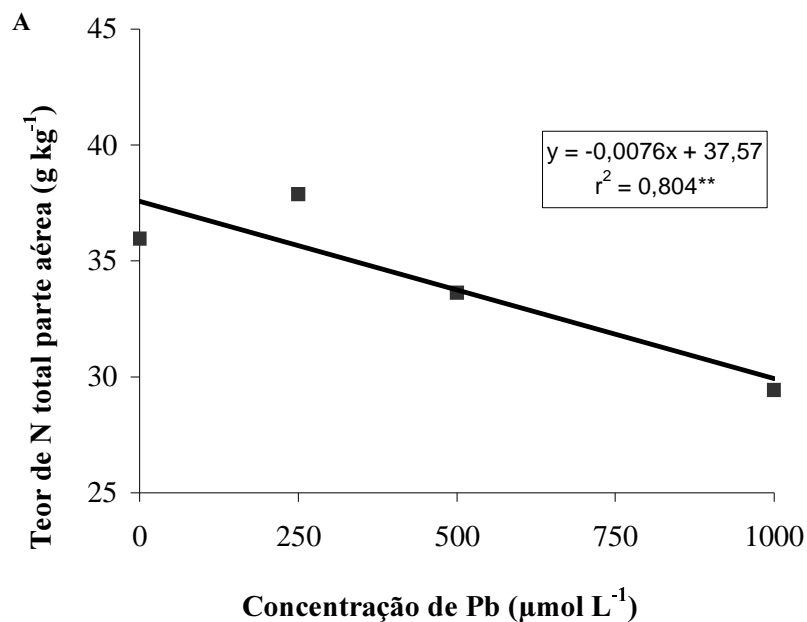


Figura 15 – Teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 14 dias. ** Significativo a 1%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%.

Na figura 16-A, que mostra o teor de nitrogênio na parte aérea do tratamento S/R de plantas expostas por 22 dias ao Pb observou-se que as plantas não apresentaram

diferenças estatísticas significativas em função do aumento na concentração de Pb na solução. No tratamento C/R observou-se diminuição linear no teor de nitrogênio nas plantas em função do aumento no teor de Pb na solução (figura 16-B).

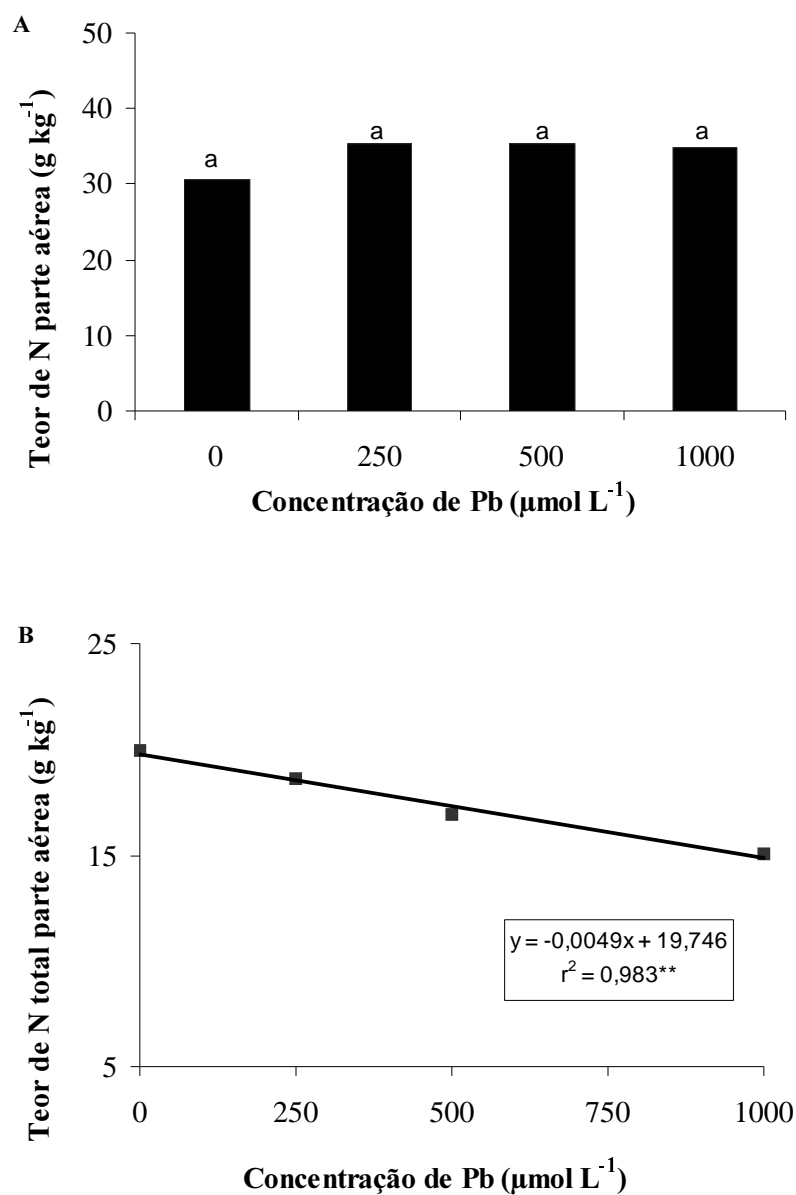


Figura 16 – Teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão-de-porco sem rizóbio (A) e com rizóbio (B), submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 22 dias. ** Significativo a 1%. Letras iguais representam resultados estatisticamente não significativos pelo teste Tukey a 5%.

No teor de nitrogênio em plantas expostas por 27 dias ao Pb observaram-se diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos em função do aumento na concentração de Pb na solução (figura 17-A). O tratamento S/R obteve as maiores concentrações de nitrogênio quando comparado com o tratamento C/R.

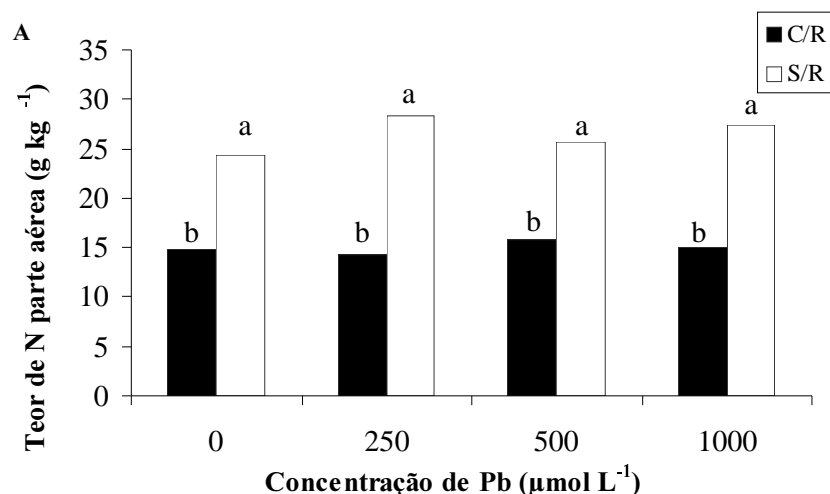


Figura 17 – Teor de nitrogênio na parte aérea de plantas de feijão-de-porco, submetidas a diferentes concentrações de chumbo por 27 dias. Letras diferentes representam resultados estatisticamente significativos pelo teste Tukey a 5%.

O tratamento S/R tinha maior teor de nitrogênio 14 dias após a aplicação de Pb quando comparado com o tratamento C/R, o que era de se esperar porque o tratamento S/R recebeu dose extra de nitrogênio e o tratamento C/R não nodulou. Contudo, o tratamento C/R não apresentou diferenças estatísticas significativas entre as diferentes doses de Pb aplicadas.

Alguns tratamentos não variaram significativamente em relação ao teor de nitrogênio em função do Pb aplicado, portanto pode ter ocorrido um efeito de diluição/concentração do N na planta.

O nitrogênio tem sido considerado um dos principais nutrientes a limitar o crescimento e a produtividade dos vegetais. Plantas cultivadas com quantidades inadequadas de nitrogênio normalmente não expressam o seu potencial produtivo, visto

que, sob tais condições, podem ocorrer reduções significativas na taxa assimilatória líquida de CO₂ (EVANS, 1989).

Neste experimento era de se esperar que o tratamento C/R obtivesse maiores concentrações de nitrogênio que o tratamento S/R. Porém o fato do tratamento C/R não ter apresentado nodulação das bactérias que foram inoculadas, fez com que ele tivesse a metade da concentração de nitrogênio que o tratamento S/R, o qual recebeu dose extra de nitrogênio. Para verificar se houve interações entre os tratamentos com e sem rizóbio e as diferentes concentrações de Pb, a tabela 5, 6 e 7 mostram respectivamente a significância do teste F para as plantas de feijão-de-porco nos dias 14, 22 e 27 após a aplicação de Pb.

Tabela 5 – Teste F para diferentes variáveis obtidas em plantas de *Canavalia ensiformis* L. D.C, 14 dias após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo sob temperatura e condições fotoperiódicas naturais.

Medidas	Rizóbio (A)		Pb (B) ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				Interações						
	sem (A1)	com (A2)	0 (B1)	250(B2)	500(B3)	1000(B4)	A X B	A X B1	A X B2	A X B3	A X B4	B X A1	B x A2
Área foliar	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Matéria seca caule	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Teor de Pb raiz	NS	NS	**	**	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Teor de Pb aérea	**	**	**	**	**	**	**	NS	NS	NS	**	**	**
Teor de N	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

* 5% probabilidade ** 1% de probabilidade NS não significativo

Tabela 6 – Teste F para diferentes variáveis obtidas em plantas de *Canavalia ensiformis* L. D.C, 22 dias após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo sob temperatura e condições fotoperiódicas naturais.

Medidas	Rizóbio (A)		Pb (B) ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				Interações						
	sem (A1)	com (A2)	0 (B1)	250(B2)	500(B3)	1000(B4)	A X B	A x B1	A X B2	A X B3	A X B4	B X A1	B x A2
Área foliar	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Matéria seca caule	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Teor de Pb raiz	NS	NS	**	**	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Teor de Pb aérea	**	**	**	**	**	**	NS	**	**	**	**	**	**
Teor de N	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

* 5% probabilidade ** 1% de probabilidade NS não significativo

Tabela 7 – Teste F para diferentes variáveis obtidas em plantas de *Canavalia ensiformis* L. D.C, 27 dias após a aplicação de Pb, submetidas a diferentes concentrações de chumbo sob temperatura e condições fotoperiódicas naturais.

Medidas	Rizóbio (A)		Pb (B) ($\mu\text{mol L}^{-1}$)				Interações						
	sem (A1)	com (A2)	0 (B1)	250(B2)	500(B3)	1000(B4)	A X B	A x B1	A X B2	A X B3	A X B4	B X A1	B x A2
Área foliar	**	**	NS	NS	NS	NS	*	**	NS	**	**	NS	NS
Matéria seca caule	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Teor de Pb raiz	**	**	**	**	**	**	**	NS	**	**	**	**	**
Teor de Pb aérea	**	**	**	**	**	**	**	NS	**	**	**	**	**
Teor de N	**	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

* 5% de probabilidade **1% de probabilidade NS não significativo

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maior concentração de Pb afetou principalmente as plantas dos tratamentos C/R, na altura 14 dias após a exposição ao chumbo, teor de Pb na raiz e na parte aérea 27 dias após a exposição ao chumbo.

A revegetação de locais contaminados com MPs requer, entre outros fatores, a obtenção de rizóbios tolerantes aos níveis tóxicos de MPs. A inibição da nodulação pode ser explicada pelo fato de as bactérias do gênero *Rizhobium*, geralmente, diminuírem o pH do seu meio, aumentando assim a disponibilidade e toxicidade dos metais. A menor tolerância das bactérias do gênero *Rizhobium* aos MPs em comparação às outras bactérias fixadoras de nitrogênio é a falta de uma cápsula polissacarídica ao redor das células, que retém os MPs impedindo-os de serem absorvidos (MATSUDA et al., 2002). Segundo ANDRADE et al. (2004), o número e a matéria seca de nódulos diminuíram significativamente com as doses crescentes de chumbo no solo, em plantas de soja, até 600 mg kg⁻¹ de Pb.

Nas plantas expostas ao Pb por 14 dias, verificou-se uma diminuição evidente do crescimento das plantas C/R a partir da dose 500 µmol L⁻¹. Já as plantas S/R não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre as diferentes concentrações de Pb. Já as plantas expostas ao Pb por 22 dias não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos S/R e C/R nas diferentes concentrações de Pb.

PUNZ & SIEGHARDT (1993) relataram que houve murchamento das espécies herbáceas utilizadas quando submetidas a altas concentrações do metal Pb tendo atribuído o fato à limitação de absorção de água. Neste trabalho não se observaram sintomas de fitotoxicidade como murchamento, queda de folhas, clorose e posterior necrose. O número de folhas das plantas expostas ao Pb por 14, 22 e 27 dias não apresentou diferenças estatísticas significativas entre as diferentes concentrações de Pb.

O tratamento S/R apresentou as maiores medidas de aérea foliar 14, 22 e 27 dias após exposição ao Pb quando comparado com o tratamento C/R. A matéria seca não foi afetada em função das doses crescentes de Pb, o índice de produção relativa foi alto. O teor de Pb nas plantas foi afetado principalmente na dose 1000 µmol L⁻¹, o índice de translocação de Pb foi baixo, evidenciando a baixa mobilidade do Pb na plantas de feijão-de-porco. O teor de nitrogênio nas plantas foi afetado em alguns tratamentos em função da dose de Pb aplicada.

O Pb causa inibição de atividades enzimáticas, distúrbios de nutrição mineral, de balanço hídrico, mudanças hormonais e alterações na permeabilidade da membrana celular. Altas concentrações podem levar à morte celular (SERIGIN & IVANOV, 2001). A alta concentração de Pb prejudicou o transporte de água e nutrientes, diminuindo a disponibilidade destes para a parte aérea em *Ipomea aquatica* e em espinafre (HORNG et al. 2002).

Neste experimento o Pb não limitou o desenvolvimento e crescimento das plantas mostrando a eficiência do feijão-de-porco como planta fitoextratora.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) A espécie *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. (feijão-de-porco) possui potencial fitoextrator para o MP Pb.
- b) O Pb, até as concentrações estudadas neste experimento, não inibiu o desenvolvimento fisiológico das plantas *Canavalia ensiformis* (L.) D.C.
- c) Mesmo na dose chumbo de $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$ a espécie *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. não apresentou sintomas de fitotoxicidade.
- d) O método de digestão com aquecimento por microondas foi mais preciso e exato que a via seca para a quantificação de Pb em amostras de tecido vegetal.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABICHEQUER, A.D.; BOHNEN, h. Eficiência de absorção, translocação e utilização de P por variedades de trigo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 22, p. 21-26, 1998.

ABREU, C.A de; ABREU, M.F de; RAIJ, B. VAN & SANTOS, W.R. Comparação de métodos para avaliar a disponibilidade de metais pesados em solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, p. 463-468, 1995.

ABREU, C.A de; ABREU, M.F de; ANDRADE, J.C. Distribuição do chumbo no solo avaliada pelos extratores DTPA e Mehlich-3. **Bragantia**, Campinas, v.57, n.1, p. 185-192, 1998.

ABREU, M.F.; ANDRADE, J.C.; FALCÃO, A. A. Protocolos de análises químicas. In: Andrade, J.C.; Abreu, M.F. (ed). **Análise química de resíduos sólidos para monitoramento e estudos agroambientais**. p.121-158. Campinas: Instituto Agrônômico. 2006.

ABREU, M.F. **Extração e determinação simultânea por emissão em plasma de nutrientes e elementos tóxicos em amostras de interesse agrônômico**. 1997. 135 f. Tese (Doutorado)-Instituto de Química, universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. **Tópicos em Ciências do Solo**, v. 1, p. 299-351, 2000.

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

ALLEN, E.H.; HUANG, P.C.; BAILEY, W.G.; BOWERS, R.A. Metal speciation and contamination of soil. Land contamination by metals: global scope and magnitude of problem. Lewis Publishers, CRC press, Boca Raton, EUA, p. 1-33, 1995.

ALMÅS, Å.R.; BAKKEN, L.R.; MULDER, J. **Adaptation of soil microbial communities to Zn and Cd contamination in relation to microbial attachment in soil**. In: 8TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOGEOCHEMISTRY OF TRACE ELEMENTS. Austrália, 2005. CD-ROM

AMARAL, A.S. **Liberação de Zn, Fe, Mn , Cd e Pb de quatro corretivos de acidez do solo e absorção por plantas de alface, em dois solos de diferentes texturas**. Viçosa – MG: UFV, 1993. 87p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa, 1993.

ANDRADE, S. A. L. **Interação de micorriza e chumbo no desenvolvimento da soja e seu efeito na atividade microbiana do solo**. 2001. 136 f. Dissertação (Mestrado em Genética e

Biologia Molecular na área de Microbiologia)- Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

ANDRADE, S.A.L.; ABREU, C.A.; ABREU, M.F.; SILVEIRA, A.P.D. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and Rhizobium symbioses under soybeans plants. **Applied Soil Ecology**, v. 26, p. 123-131, 2004.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Control. CERCL priority list of hazardous substances for 2003. www.atsdr.cdc.gov/cxcx3.html, (21 de agosto de 2006).

AZEVEDO FA, CHASIN AAM. **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Editora Atheneu; 2003.

BAIRD, C. Environmental Chemistry. 2 ed. New York: W.H. Freedman & Company, 1995.

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R.; Método de análise química de plantas. Campinas: Instituto Agrônômico, 1983. Boletim técnico n.78.

BHARTI, N.; SINGH, R. P. Growth and nitrate reduction by *Sesamum indicum* cv. PB-1 responds differentially to lead. **Phytochemistry**, v. 33, n. 3, p. 531-534, 1993.

BREMNER, J.M. Total nitrogen. *In*: BLACK, C.A., ed. Methods of soil analysis. **Madison American Society of Agronomy**, p. 1149-1178, 1965.

BUDAVARI, S.M., O'NEIL, J., SMITH A., and HECKLEMAN P.E. [Eds] (1989) The Merck index: an encyclopaedia of chemicals, drugs and biologicals. 11th Edn Merck and Co, Inc., New Jersey, USA.

CETESB. COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. <http://www.cetesb.sp.gov.br>. (05 de outubro de 2006).

CHAN, G.Y.S.; YE, Z.H.; WONG, M.H. (2003) Comparison of four *Sesbania* species to remediate Pb/Zn and Cu mine tailings. *Environ. Management* 32:246-251.

CHANEY, R.L., MALIK, M., LI, Y.M., BROWN, S.L., BREWER, E.P., ANGLE, J.S. e BAKER, A.J.M. Phytoremediation of soil metals. **Current Opinions in Biotechnology**, 8, 279-284, 1997.

CHANEY, R.L.; BROWN, S.L.; LI, Y.M.; ANGLE, S.; STUCZYNSKI, T.I.; DANIELS, W.L.; HENRY, C.; SIEBIELEC, G.; MALIK, M.; RYAN, J.A.; COMPTON, H. **Progress in risk assessment for soil metals, and in-situ remediation and phytoextraction of metals from hazardous contaminated soils**. US-EPA's Conference "Phytoremediation: state of science conference", Boston, MA, 1-33, 2000.

CHRISTIAN, G.D.1994. Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc. 5ª edição. Nova York (EUA). 812p.

CLÉMENT, A. 1995. Determination of trace elements in foliar tissues of forest trees for nutrition diagnostics. **Sci. Total Environ.**, 176: 117-120.

CORDEIRO, L. Fixação do nitrogênio. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. P. 76-93.

CUNNINGHAM, S.D.; ANDERSON, T.A.; SCHWAB, A.P. HSU, F.C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Advances Agronomy.**, 56:55-114, 1996.

EVANS, J.R. Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C3 plants. **Oecologia**, Berlim, v.78, n.1, p.9-19, 1989.

EXPOSIÇÃO AMBIENTAL AO CHUMBO: Um problema global, Bulletin os The World Health Organization, 2000, 78 (9), <http://boasaude.uol.com.br>. (28 de outubro de 2006).

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 29, n. 5/6, p. 897-903, 1997.

FRED, C.; S.WAKSMAN. 1928. **Yeast extract manitol agar**. Laboratory Manual of General Microbiology. McGraw Hill. New York. 145 p.

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

GLASS, D. J (1998) The 1998 United States Market for Phytoremediation, D. Glass Associates, Needham, 139pp.

HARDY, R.W.F and HAVELKA V.P. (1975). Nitrogen fixation research: a key to world food. *Science*, v.188, p.633-643.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method growing plants without soil. U. Calif. Agric. Exp. Sta., Califórnia, Circular 347, 1939.

HOENIG, M. 1995. Critical discussion of trace elements analysis of plant matrices. *Sci. Total Environ.*, 176: 85-91.

HORNG, TSEN-JENG, SU-CHIACHUN; KING-VAE.; TSEN-JH; SU-CC. Heavy metals absorption of hydroponic Chinese kale. **Journal of Agriculture and Forestry**. 2002, 51:1, p.73-83.

HUANG, J.W.; CHEN,J.; BERTI, W.R.; CUNNINGHAM, S.D. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. **Environmental Chelates Science Technology**, v.31, p.800-805, 1997.

HUNGRIA, M. & S. ARAÚJO. (Eds). 1994. **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. EMBRAPA. Serviço de Informação. Brasília, D.F. 542 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. www.ibge.com.br. (21 de agosto de 2006).

JASSIE, L.B. e H.M. KINGSTON. 1988. Introduction to microwave acid decomposition, p.1-8. In: H.M. KINGSTON, and L.B. JASSIE (eds). Introduction to microwave sample preparation. ACS Professional reference Book, American Chemical Society, Washington (EUA).

JONES JR., J.B. e CASE, V.W. 1990. Sampling, handling, and analyzing plant tissue samples. P. 389-425. In: Westerman, R.L (ed) Soil Testing and Plant Analysis, 3ª edição, Soil Science Society of America, Inc., Madison (EUA).

JONES JR., J.B., WOLF, B. e MILLS, H.A. 1991. Plant Analysis Handbook. Micro-macro Publishing, Inc. Athens (EUA). 203p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. Boca Raton: CRC Press, 1984. 315 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 1992.

KÄRENLAMPI, S.; SCHAT, H.; VANGRONSVELD, J.; VERKLEIJ, J.A.C.; LELIE, D.; MERGEAY, M.; TERVAHAUTA, A.I. Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. **Environmental Pollution**, v. 107, p. 225-231, 2000.

KASTORI, R. et al. Effect of excess lead on sunflower growth and photosynthesis. **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 75-85, 1998.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.

KHAN, A.G.; KUEK, C.; CHAUDHRY, T.M.; KHOO, C.S.; HAYES W.J.. Role plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. **Chemosphere**, v.41, p. 197-207, 2000.

KINGSTON, H.M. e JASSIE, L.B. 1988. Monitoring and predicting parameters in microwave dissolution. P. al(m),Tj 4.44 0 Td (s)Tj 4.44 0 Td Td (S)Tj 6.24 0 Td (V)Tj 8.04 0 Td (E)

LASAT, M.M. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. **J. Environmental Quality**, v. 31, p. 109-120, 2002.

LASAT, M.M. Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. **J. of Hazardous Substance Research**, v.2, 25 p., 2000.

LORENZI, HARRI - Plantas Ornamentais no Brasil-Plantarum, Nova Odessa, 1995.

MARQUES, T.C.L.L. de S. e M.; MOREIRA, F.M. de S.; SIQUEIRA, J.O. Crescimento e teor de metais de mudas de espécies arbóreas cultivadas em solo contaminado com metais pesados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35:121-132, 2000.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados – mitos, mistificação e fatos**. São Paulo: Petroquímica, 1994. 153p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Disponível em www.saude.gov.br em 10 de agosto de 2006.

MARCHIOL, L.; ASSOLARI, S.; SACCO, P.; ZERBI, G. (2004) Phytoextraction of heavy metals by canola (*Bassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environ. Pollution* 132:21-27.

MATSUDA, A.; MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Tolerância de rizóbios de diferentes procedências ao zinco, cobre e cádmio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 343-355, 2002.

MCGRATH, S. P (1998) Phytoextraction for soil remediation. In Brooks, R. R [Ed], *Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals*, CAB International, Wallingford, pp. 261 – 287.

NASCIMENTO, CLÍSTENES WILLIAMS ARAÚJO DO.; XING, BAOSHAN. Fitoextração: uma revisão sobre disponibilidade induzida e acumulação de metais em plantas. **Sci. agric.** (Piracicaba, Braz.). vol. 63, no. 3 ,pp. 299-311. 2006

NEWMAN, L. A., S. L. DOTY, K. L. GERY, P. E. HEILMAN, I. MUIZNIEKS, Q. T. SHANG, S. T. SIEMIENIEC, S. E. STRAND, X. WANG, A. M. WILSON, AND M. P. GORDON. 1998. Phytoremediation of organic contaminants: A review of phytoremediation research at the University of Washington. *Journal of Soil Contamination*, v.7, p. 531-542, 1998.

NRIAGU, J.O., 1996, History of Global Metal Pollution, *Science*, 272(5259), 223-224.

NRIAGU, J.O. Saturnine gout among Roman aristocrats. Did lead poisoning contribute to the fall of the Empire? **N. Engl. J. Med.** 308:660-663,1983.

NOGUEIRA, DIOGO PUPO.; COLACIOPPO, SÉRGIO.; SOUZA, JOSÉ MARIA PACHECO. Taxa de chumbo em amostra de voluntários "não expostos" habitantes da Grande São Paulo - Brasil. **Rev. Saúde Pública.**, São Paulo, v. 13, n. 2, 1979.

PAIVA, HAROLDO NOGUEIRA de, CARVALHO, JANICE GUEDES de, SIQUEIRA, JOSÉ OSWALDO et al. Influence of increasing lead levels on nutrient and Pb content and accumulation in ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) seedlings. **Rev. Árvore.**, Viçosa, v. 27, n. 2, 2003.

PAIVA, H.N.; CARVALHO, J.G.; SIQUEIRA, J.O. Índice de translocação de nutrientes em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) submetidas a doses crescentes de cádmio, níquel e chumbo. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n.4, p. 467-473, 2002.

PAIVA, H. N. **Toxidez de Cd, Ni, Pb e Zn em mudas de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.)**. 2000. 283 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

PERAZA MA, AYALA-FIERRO F, BARBER DS, CASAREZ E, RAEL LT (1998) Effects of micronutrients in metal toxicity. *Environ. Health Perspect.* 106:203-216.

PIRES, F.R.; SOUZA, C.M.; SILVA, A. A. **Fitorremediação de solos contaminados com tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde**. *Planta daninha*, Viçosa, v. 23, n. 4, 2005.

PIRES, F. R. et al. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

PUNZ, W.F.; SIEGHARDT, H. (1993) The response of roots of herbaceous plant-species to heavy metals. *Environ. Exp. Bot.* 33, 85-98.

RASKIN, I.; KUMAR, R.D. & SALT, D.E. Phytoremediation of metals using plants to remove pollutants from the environmental. **Curr. Opin. Biotech.**, 8:221-226, 1997.

RIBEIRA FILHO, M.R.; SIQUEIRA, J.O.; CURI, N.; SIMÃO, J.B.P. Fracionamento e biodisponibilidade de metais pesados em solo contaminado, incubado com materiais orgânicos e inorgânicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.25, p. 495-507, 2001.

ROBINSOM, B.; FERNANDEZ, J.H.; MADEJÓN, P.; MARAÑÓN, T.; MURILLO, J.M.; GREEN, S.; CLOTHIER, B. (2003) Phytoextraction: an assessment of biogeochemical and economic viability. *Plant Soil* 249:117-125.

ROMEIRO, S. Potencial fitoextrator de *Ricinus communis* L., *Helianthus annus* L. e *Canavalia ensiformes* L. para o chumbo, em solução nutritiva. 2005. 69f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical)- Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, 2005.

SARYAN LA & ZENZ C 1994. Lead and its compounds, pp. 506-541. In C Zenz, OB Dickerson & EP Horvath (eds.). *Occupational medicine*. Editora Mosby-Year Book, Inc., EUA.

SERIGIN, I.V.; IVANIOV, V.B. (2001) Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 48:606-630.

SOUZA NETO, J.A.; COSENZA, R.M. A gota de chumbo no vinho. *Revista Médica de Minas Gerais*, v.3, n.2, p. 115-117, 1993.

STOLTZ, E.; GREGER, M. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailing. *Environmental and Experimental Botany*.2002, 47:3, p. 271-280.

TAN, K.H. **Environmental soil science**. 2.ed. New York: Marcel DekkerInc., 452 p., 2000.

UDVARDI, M. K., LISTER, D. L., AND DAY, D. A. 1992. Isolation and characterization of a *nrC* mutant of *Bradyrhizobium* (Parasponia) sp. ANU289. *J. Gen. Microbiol.* 138:1019-1025.

VERKLEIJ, J.A.C.; PRAST, J.E. Cadmium tolerance and co-tolerance in *Silene vulgaris* (Moench.) Garcke [= *S. cucubalus* (L.) wilb.]. **The New Phytologist**, London, v.111, n.4, p.637-645, 1989.

VOS, J. et al. Effect of nitrogen supply on leaf appearance, leaf growth, leaf nitrogen economy and photosynthetic capacity in maize (*Zea mays* L.). **Field Crop Research**, Amsterdam, v.93, n.1, p.64-73, 2005.

VOS, J.; VAN DER PUTTEN, P.E.L. Effect of nitrogen supply on leaf growth, leaf nitrogen economy and photosynthetic capacity in potato. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.59, n.1, p.63-72, 1998.

ZORNOZA, P.; VÁZQUEZ, S.; ESTABAN, E.; FERNANDEZ-PASCUAL, M.; CARPENA, R. Cadmium-stress in nodulated white-lupin: strategies to avoid toxicity. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 40, p. 1003-1009, 2002.

WENZEL, W. W., AND F. JOCKWER. 1999 . Accumulation of heavy metals in plants grown on mineralized soils of the Austrian Alps. *Environ. Pollut.* 104:145-155.

7 ANEXO

7.1 Anexo I – Composição química da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1939) modificada.

	Solução Estoque 1mol L⁻¹	Relação Solução Estoque Solução Básica
Componentes	Concentração	
	g.L⁻¹	mL.L⁻¹
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236,16	4,0
KNO ₃	101,10	6,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	246,50	2,0
KH ₂ PO ₄	5,28	1,0
KCl	71,70	6,0
CaCl ₂ .2H ₂ O	147,02	5,0
EDDHA Fe (6%)	83,30	0,5
H ₃ BO ₃	2,86	1,0
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81	1,0
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22	1,0
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,08	1,0
H ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,02	1,0
Pb(CH ₃ COO) ₂ .3H ₂ O	20,13	

7.2 Anexo II – Composição química da solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1939) modificada sem adição de nitrogênio.

Solução Estoque 1mol L⁻¹		Relação Solução Estoque Solução Básica
Componentes	Concentração	
	g.L⁻¹	mL.L⁻¹
MgSO ₄ .7H ₂ O	246,50	2,0
KH ₂ PO ₄	5,28	1,0
KCl	71,70	6,0
CaCl ₂ .2H ₂ O	147,02	5,0
EDDHA Fe (6%)	83,30	0,5
H ₃ BO ₃	2,86	1,0
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81	1,0
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22	1,0
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,08	1,0
H ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0,02	1,0
Pb(CH ₃ COO) ₂ .3H ₂ O	20,13	

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)